This is a digital copy of a book that was preserved for generations on library shelves before it was carefully scanned by Google as part of a project to make the world's books discoverable online.

It has survived long enough for the copyright to expire and the book to enter the public domain. A public domain book is one that was never subject to copyright or whose legal copyright term has expired. Whether a book is in the public domain may vary country to country. Public domain books are our gateways to the past, representing a wealth of history, culture and knowledge that's often difficult to discover.

Marks, notations and other marginalia present in the original volume will appear in this file - a reminder of this book's long journey from the publisher to a library and finally to you.

Usage guidelines

Google is proud to partner with libraries to digitize public domain materials and make them widely accessible. Public domain books belong to the public and we are merely their custodians. Nevertheless, this work is expensive, so in order to keep providing this resource, we have taken steps to prevent abuse by commercial parties, including placing technical restrictions on automated querying.

We also ask that you:

+ *Make non-commercial use of the files* We designed Google Book Search for use by individuals, and we request that you use these files for personal, non-commercial purposes.

+ *Refrain from automated querying* Do not send automated queries of any sort to Google's system: If you are conducting research on machine translation, optical character recognition or other areas where access to a large amount of text is helpful, please contact us. We encourage the use of public domain materials for these purposes and may be able to help.

+ *Maintain attribution* The Google "watermark" you see on each file is essential for informing people about this project and helping them find additional materials through Google Book Search. Please do not remove it.

+ *Keep it legal* Whatever your use, remember that you are responsible for ensuring that what you are doing is legal. Do not assume that just because we believe a book is in the public domain for users in the United States, that the work is also in the public domain for users in other countries. Whether a book is still in copyright varies from country to country, and we can't offer guidance on whether any specific use of any specific book is allowed. Please do not assume that a book's appearance in Google Book Search means it can be used in any manner anywhere in the world. Copyright infringement liability can be quite severe.

About Google Book Search

Google's mission is to organize the world's information and to make it universally accessible and useful. Google Book Search helps readers discover the world's books while helping authors and publishers reach new audiences. You can search through the full text of this book on the web at `http://books.google.com/`

Über dieses Buch

Dies ist ein digitales Exemplar eines Buches, das seit Generationen in den Regalen der Bibliotheken aufbewahrt wurde, bevor es von Google im Rahmen eines Projekts, mit dem die Bücher dieser Welt online verfügbar gemacht werden sollen, sorgfältig gescannt wurde.

Das Buch hat das Urheberrecht überdauert und kann nun öffentlich zugänglich gemacht werden. Ein öffentlich zugängliches Buch ist ein Buch, das niemals Urheberrechten unterlag oder bei dem die Schutzfrist des Urheberrechts abgelaufen ist. Ob ein Buch öffentlich zugänglich ist, kann von Land zu Land unterschiedlich sein. Öffentlich zugängliche Bücher sind unser Tor zur Vergangenheit und stellen ein geschichtliches, kulturelles und wissenschaftliches Vermögen dar, das häufig nur schwierig zu entdecken ist.

Gebrauchsspuren, Anmerkungen und andere Randbemerkungen, die im Originalband enthalten sind, finden sich auch in dieser Datei – eine Erinnerung an die lange Reise, die das Buch vom Verleger zu einer Bibliothek und weiter zu Ihnen hinter sich gebracht hat.

Nutzungsrichtlinien

Google ist stolz, mit Bibliotheken in partnerschaftlicher Zusammenarbeit öffentlich zugängliches Material zu digitalisieren und einer breiten Masse zugänglich zu machen. Öffentlich zugängliche Bücher gehören der Öffentlichkeit, und wir sind nur ihre Hüter. Nichtsdestotrotz ist diese Arbeit kostspielig. Um diese Ressource weiterhin zur Verfügung stellen zu können, haben wir Schritte unternommen, um den Missbrauch durch kommerzielle Parteien zu verhindern. Dazu gehören technische Einschränkungen für automatisierte Abfragen.

Wir bitten Sie um Einhaltung folgender Richtlinien:

+ *Nutzung der Dateien zu nichtkommerziellen Zwecken* Wir haben Google Buchsuche für Endanwender konzipiert und möchten, dass Sie diese Dateien nur für persönliche, nichtkommerzielle Zwecke verwenden.

+ *Keine automatisierten Abfragen* Senden Sie keine automatisierten Abfragen irgendwelcher Art an das Google-System. Wenn Sie Recherchen über maschinelle Übersetzung, optische Zeichenerkennung oder andere Bereiche durchführen, in denen der Zugang zu Text in großen Mengen nützlich ist, wenden Sie sich bitte an uns. Wir fördern die Nutzung des öffentlich zugänglichen Materials für diese Zwecke und können Ihnen unter Umständen helfen.

+ *Beibehaltung von Google-Markenelementen* Das "Wasserzeichen" von Google, das Sie in jeder Datei finden, ist wichtig zur Information über dieses Projekt und hilft den Anwendern weiteres Material über Google Buchsuche zu finden. Bitte entfernen Sie das Wasserzeichen nicht.

+ *Bewegen Sie sich innerhalb der Legalität* Unabhängig von Ihrem Verwendungszweck müssen Sie sich Ihrer Verantwortung bewusst sein, sicherzustellen, dass Ihre Nutzung legal ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass ein Buch, das nach unserem Dafürhalten für Nutzer in den USA öffentlich zugänglich ist, auch für Nutzer in anderen Ländern öffentlich zugänglich ist. Ob ein Buch noch dem Urheberrecht unterliegt, ist von Land zu Land verschieden. Wir können keine Beratung leisten, ob eine bestimmte Nutzung eines bestimmten Buches gesetzlich zulässig ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass das Erscheinen eines Buchs in Google Buchsuche bedeutet, dass es in jeder Form und überall auf der Welt verwendet werden kann. Eine Urheberrechtsverletzung kann schwerwiegende Folgen haben.

Über Google Buchsuche

Das Ziel von Google besteht darin, die weltweiten Informationen zu organisieren und allgemein nutzbar und zugänglich zu machen. Google Buchsuche hilft Lesern dabei, die Bücher dieser Welt zu entdecken, und unterstützt Autoren und Verleger dabei, neue Zielgruppen zu erreichen. Den gesamten Buchtext können Sie im Internet unter `http://books.google.com` durchsuchen.

K-QR
201
B6J6

UC-NRLF
$B 96 975

UNTERSUCHUNGEN

über

BOTRYOMYCES

D. A. DE JONG Jzn.

Ex-libris
Charles Atwood
Kafoid

THE LIBRARY
OF
THE UNIVERSITY
OF CALIFORNIA

PRESENTED BY
PROF. CHARLES A. KOFOID AND
MRS. PRUDENCE W. KOFOID

UNTERSUCHUNGEN

UEBER

BOTRYOMYCES

UNTERSUCHUNGEN

ÜBER

BOTRYOMYCES

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER VETERINÄR-MEDICINISCHEN DOCTORWÜRDE

DER

HOHEN MEDICINISCHEN FACULTÄT

AN DER

GROSSHERZOGLICH HESSISCHEN LUDWIGS-UNIVERSITÄT GIESSEN

VORGELEGT VON

D. A. DE JONG Jzn
Thierarzt in Leiden

BUCHHANDLUNG UND DRUCKEREI
VORMALS
E. J. BRILL
LEIDEN — 1899

DRUCKEREI VORMALS E. J. BRILL IN LEIDEN.

K-QR201
B6J6
Bio.
Lib.

INHALTSVERZEICHNISS.

I. Einleitung . . . . . Seite 1.
II. Pathogene Wirkung des Micrococcus botryogenes bei den gewöhnlichen Laboratoriumsversuchsthieren . . . . . „ 21.
III. Versuche an Pferden . . . . . „ 46.
IV. Kultureigenschaften, Form-, Grösse- und Färbungsverhältnisse des Micrococcus botryogenes. Botryococcus und Staphylococcus . . . . „ 72.
V. Schlussbetrachtung . . . . . „ 86.

M351459

UNTERSUCHUNGEN UEBER BOTRYOMYCES.

I. Einleitung.

Im Jahre 1886 veröffentlichte der jetzt verstorbene Prof. Dr. C. RABE in Hannover seine schönen Untersuchungen über *„mykotische Bindegewebswucherungen bei Pferden"* [1]), wodurch die biologischen und pathogenen Eigenschaften des heutzutage unter den verschiedenen Namen von *Micrococcus ascoformans* (JOHNE), *Micrococcus botryogenes* (RABE), *Botryomyces* (BOLLINGER), *Botryococcus ascoformans* (KITT) bekannten und früher schon von RIVOLTA als *Discomyces equi* bezeichneten Microorganismus in meisterhafter und klarer Weise bekannt gemacht wurden.

Der grosse Werth der RABE'schen Untersuchungen für die Aetiologie der *Botryomykome* oder Mykofibrome, wie man die mykotischen Bindegewebswucherungen, welche von dem obenerwähnten Spaltpilz verursacht werden, jetzt gewöhnlich bezeichnet, ist wohl daraus ersichtlich, dass heutzutage, auch in der neuesten Litteratur, immer die Eigenschaften des Botryomyces, wie sie von RABE angegeben und beschrieben sind, mit Ausnahme von einzelnen kleinen Abweichungen, wiederholt werden. Und die Litteratur über Botryomyces ist sehr gross.

1) Deutsche Zeitschrift für Thiermedicin und Vergl. Pathologie, Band XII, S. 137.

Für den Zweck dieser Arbeit ist es nicht nothwendig eine vollständige Uebersicht davon zu geben. Ich verweise in dieser Hinsicht auf die Arbeiten von TH. KITT [1]), JENSEN [2]), auf das Lehrbuch von FRIEDBERGER und FRÖHNER, 4. Auflage, 1896, und auf die neueste zusammenfassende Uebersicht von SCHNEIDEMÜHL [3]).

Wohl achte ich es jedoch erforderlich jene Angaben von RABE oder Anderen, welche Veranlassung zu meinen Untersuchungen gegeben haben mehr oder weniger *ausführlich zu besprechen.*

Aus dem von RABE (loc. cit.) unter der Ueberschrift „Biologisches" Mitgetheilten entnehme ich Folgendes:

„Der fragliche *Micrococcus* bildet in *Plattenculturen* auf Fleisch-„wasserpeptongelatine kugelrunde, scharf begrenzte Colonien, die „anfangs silbergrau, später, wenn sie grösser geworden sind, mehr „gelblichgrau erscheinen, in beiden Fällen aber einen metallischen „Glanz besitzen. Die Colonien liegen immer in der Gelatine. Eine „Verflüssigung der letzteren tritt auf den Platten, die schliesslich „aussehen, als ob sie mit Blüthenstaub bepudert wären, nicht ein.

„Auf *Kartoffeln* wächst der Coccus in Form eines mattgelb-„lichen, reifartigen Ueberzuges.

„Sowohl die Culturen auf Kartoffeln, als auch besonders die-„jenigen auf Platten zeichnen sich durch einen eigenthümlichen, „obstartig aromatischen und erfrischenden Geruch aus, der an „Erdbeeren erinnert.

„In *Impfstichen*, die ich auf Fleischwasserpeptongelatine appli-„cirte, vegetirt der hier in Rede stehende Micrococcus immer „in derselben Weise, mag nun die Uebertragung von einem „Reagensgläschen auf das andere oder von Plattenculturen oder „auch von Kartoffeln vorgenommen worden sein. Silbergraue und „kleine, oder grössere und gelblichgraue Colonien aus Platten „ergaben gleichfalls jedesmal dasselbe, sogleich zu schildernde

---

1) Der Micrococcus ascoformans und das Mykofibrom des Pferdes. Zusammenfassender Bericht. Centralblatt für Bakteriologie u. Parasitenkunde. 1888.

2) Ueber Botryomykose. Deutsche Zeitschrift für Thiermedicin 1892, Bd. XVIII. S. 433.

3) Ueber Botryomykose beim Menschen und bei Thieren. Centralblatt für Bakteriologie, Bd. XXIV., N⁰ 6/7.

„Wachsthum. Es entsteht in allen Fällen zuerst ein matter, weiss-
„lich grauer Faden, der im Verlauf von einigen Tagen etwas
„dicker, dichter und mehr milchweiss wird. Darauf erscheint am
„oberen Ende des Impfstiches eine kelch- oder tulpenförmige
„Blase, die sich nach und nach etwas vergrössert. Eine kaum
„merkbare Verflüssiging der ganz klar bleibenden Gelatine, in
„der nächsten Umgebung des Impffadens, lässt diesen allmählich
„nach abwärts und etwas in sich zusammensinken, so dass er
„nun für einige Zeit schraubenzieherartige Windungen oder auch
„eine leicht geschlängelte Linie bildet, während am oberen ver-
„dickten Ende feinste gelbliche Stäubchen erscheinen, die späterhin
immer zahlreicher werden.

„Zuletzt sinkt der ganze Faden zu einem unregelmässigen
„Klümpchen zusammen, welches, obwohl ringsum von fester
„Gelatine umgeben, sehr langsam abwärts gleitet. Von der
„kelchartigen Blase ist dasselbe durch eine cylindrische Schicht
„verflüssigter Gelatine getrennt, deren Querschnitt demjenigen
„des breitesten Theiles der Blase etwa gleich ist und welche
„daher immer noch von einer wandständigen Rinde fester Gela-
„tine umgeben ist. In der klaren, flüssigen Gelatineschicht, die
„nachträglich eintrocknet, schwimmen staubfeine Micrococcen-
„häufchen. Eine vollständige Verflüssigung der Gelatine kommt
„an rein erhaltenen Stichculturen nicht vor.

„Von diesem typischen Wachsthum können Abweichungen
„vorkommen, wenn 1. eine sehr geringe Menge von Micrococcen
„zur Uebertragung gelangt, oder wenn 2. die Gelatine wegen
„zu grosser Trockenheit und Sprödigkeit einreisst. Im Falle ad
„1, der sich ereignet, wenn bei der Impfung von einer Platten-
„colonie nur sehr wenig Pilzmaterial am Platindraht haften
„bleibt, hält die Eintrocknung mit der Verflüssigung der Gelatine
„gleichen Schritt, letztere wird also ganz unmerklich aufgezehrt
„und der Faden sinkt nicht zusammen. Zuweilen entsteht in
„solchem Falle auch gar kein continuirlicher Faden, sondern
„nur eine Reihe rundlicher Colonien von denen einzelne mit
„buckeligen Anhängseln versehen sind.

„Auch auf Agar-Agar habe ich versucht den fraglichen Mi-

„crococcus zu züchten. Es scheint mir aber nach den bisherigen „Erfahrungen, als ob dieses Nährmaterial sich nur wenig zu sei„ner Cultivirung eigne, während er auf *sterilisirten Kartoffeln* „augenscheinlich *am besten gedeiht.*

„Aus den voraufgegangenen Beobachtungen und Versuchen „würden sich folgende Erfahrungssätze ableiten lassen:

„Die *traubenförmigen Microorganismen*, welche bei drei Pfer„den *in bindegewebigen Wucherungen* bezw. des Perimysium und „der Subcutis, des Samenstranges oder des retroperitonealen „Gewebes in der Beckenregion sich vorfanden, *bestanden aus* „*Micrococcen*, deren Gegenwart auch die *Ursache* der *entzündli„chen Gewebswucherung* und der darauf folgenden Krankheits„processe war.

„(Nachträglich werde ich eine Beobachtung mittheilen, aus „der folgt, dass eine bei Pferden ziemlich häufige Erkrankung „der Cutis und Subcutis aus derselben Ursache entsteht).

„Die Micrococcen der entzündlichen Gewebswucherung des „Pferdes lassen sich auf *Fleischwasserpeptongelatine* und auf „*Kartoffeln* künstlich und mit ganz *constanten Vegetationsformen* „*züchten.*

„Die auf solche Weise erhaltenen Micrococcen tödten Meer„schweinchen unter den Erscheinungen der Septicämie.

„Bei Schafen und Ziegen erzeugen sie ein sehr heftiges ent„zündliches Oedem, welches sich sehr weit rings um die Impf„stelle ausbreitet.

„Schafe werden auch durch die Impfung des fraglichen „Micrococcus getödtet, in anderen Fällen entsteht Haut„nekrose.

„Mäuse scheinen gegen den Micrococcus der entzündlichen „Bindegewebswucherung immun zu sein.

„Bei *Pferden* entwickelt sich nach Impfung der künstlich ge„züchteten Micrococcen *zuerst* gleichfalls ein *entzündliches Oedem*, „welches sich aber innerhalb 8 bis 10 Tage wieder zertheilt. „*Erst 4 bis 6 Wochen später* wird die fortschreitende *Bindege„webswucherung* in Form einer *langsam wachsenden Geschwulst* „äusserlich wahrnehmbar, indem nun auch gleichzeitig *erbsen- bis*

„*kirschgrosse weichere Knötchen in und auf der Geschwulst* ent-„stehen.

„Oberflächlich gelegene *Knötchen* wölben sich über das all-„gemeine Niveau der Geschwulst hervor und *können* auch nach „aussen *aufbrechen.*

„Das schleimig erweichte Gewebe der Knötchen enthält jedes-„mal die *traubenförmigen Micrococcencolonien* in grösserer Menge.

„Eine *Immunität* gegen spätere Invasion des fraglichen Mi-„crococcus *erwerben die Pferde durch die Impfung nicht.*

„Die experimentellen Erfahrungen haben auch gelehrt, dass „eine sehr kleine Menge der hier fraglichen Micrococcen in den „gesunden Geweben des Pferdes einen sichtlichen pathologischen „Effect nicht hervorbringt.

„Ob der von mir gefundene und untersuchte Micrococcus mit „einer bereits bekannten und beschriebenen Spaltpilzart identisch „ist, mag vorläufig offen bleiben. Ich bezweifle es."

RABE weist dann auf die Unterschiede zwischen seinem Micrococcus und *Actinomyces* hin und sagt weiter:

„Auch als Staphylococcus pyogenes luteus und albus darf „unser Micrococcus nicht angesprochen werden, denn er unter-„scheidet sich von jenen sehr scharf durch die Art seiner ma-„kroskopischen Vegetation auf künstlichen Nährsubstraten und „durch seine Farbe. Staphylococcus albus und luteus wachsen „auf Agar-Agar sehr gut, der Micrococcus der Bindegewebs-„wucherung des Pferdes nicht. Jener macht Eiterung, dieser „entzündliches Oedem und Bindegewebswucherung.

„Wenn der hier fragliche Micrococcus seine Fähigkeit, trau-„bige Sammelcolonien zu bilden, ausser im lebenden Bindege-„webe des Pferdes, auch unter anderen Vegetationsbedingungen „bethätigen sollte und wenn sich später ergeben würde, dass „die Fähigkeit, solche Trauben zu bilden, nur dieser einen „Micrococcusspecies zukommt, würde ich vorschlagen ihn *Micro-„coccus botryogenes* (ὁ βότρυς Traube) zu nennen."

Diese Mittheilungen von RABE mögen vorläufig genügen, ob-wohl ich Angaben aus seiner interessanten Arbeit noch mehr-fach citiren werde. Jedoch weise ich nochmals darauf hin dass

man seine Ansichten, nur wenig verändert auch in der neuesten Botryomyces-Litteratur begegnet, so z. B. bei FRIEDBERGER und FRÖHNER [1]), JOHNE [2]), NOCARD und LECLAINCHE [3]), SCHNEIDEMÜHL [4]) und Anderen.

Was nun die Eigenschaften des Botryomyces und speciell seine Stellung innerhelb der bis jetzt bekannten pathogenen Microorganismen anbelangt, so sind von KITT und auch von HELL andere Meinungen vertreten worden als diejenigen von RABE.

Im Jahre 1889 schrieb KITT eine höchst merkwürdige Abhandlung über *„das Auseinanderkennen von Rotz und Botryomykose"* [5]) in der sehr wissenswerthe Sachen betreffs der Kultur und der Pathogenität von Botryomyces mitgetheilt wurden. Weil diese in nicht geringem Maasse Veranlassung zu meinen Untersuchungen gegeben haben, halte ich es für nothwendig einzelne Theile dieser Arbeit von KITT ausführlich zu referiren.

KITT weist auf die Unterschiede zwischen Rotzherden und Botryomykomen hin, welche er in den Lungen und der Bauchwand eines Pferdes gefunden hat. Er gibt eine ausführliche Beschreibung der von ihm in diesem Falle gefundenen Botryomyces-Körner, widmet einige Zeilen der Hülle der Botryococcen, welche zur Zeit Gegenstand von Meinungsverschiedenheiten zwischen JOHNE und RABE war und erwähnt dabei zugleich seine eigene Meinung, behandelt den Bau der botryomykotischen Granulationsgeschwulst und sagt weiter:

„Das vorgenannte Material wurde auch zur Anlage einiger „*Culturversuche* benützt. Es wurden unter den nöthigen Cautelen „mit geglühter Platinöse von frischen Schnittflächen der Muskel- „und der Lungenknoten die Sandkörner aufgefischt und auf „Kartoffeln, auf schiefem Glycerin-Agar ausgesät und zu Nähr- „gelatineplatten verarbeitet. Im Allgemeinen manifestirte sich das

---

1) Specielle Pathologie und Therapie der Hausthiere, 4. Auflage, 1896.

2) Lehrbuch der path. Anatomie von BIRCH-HIRSCHFELD, 5. Auflage, 1897.

3) Les Maladies microbiennes des animaux, 2me Edition. Paris, 1898.

4) Vergl. Pathologie und Therapie, Leipzig, 1893 und: Centralblatt für Bakteriologie. Band. XXIV, N° 6/7, 27 August 1898.

5) Monatshefte für prakt. Thierheilkunde. Band. I.

„Wachsthum von Colonien ähnlich wie es RABE für den Mi-
„crococcus botryogenes beschrieben hat, jedoch theilweise mit
„einigen Abweichungen, welche es mir als ausserordentlich schwie-
„rig hinstellten, eine Unterscheidung zwischen dem Staphylo-
„coccus pyogenes aureus und dem Micrococcus botryogenes (= as-
„coformans), den ich der Kürze halber einfach Botryococcus nenne,
„nach den Merkmalen der Cultur vorzunehmen. Wäre nicht die
„Isolirung der Colonien auf den drei Substraten so entschieden
„gelungen, und so oft nach Verdünnung des Aussaatmateriales
„von Neuem probirt worden, so hätte ich mich der Meinung zu-
„gewendet, dass in den Erweichungsheerden des Mykofibroms
„„neben" dem Botryococcus jenes gewöhnliche Eiterbacterium
„vorhanden gewesen, so sehr ähnlich gestaltete sich das Aussehen
„der gewonnenen Colonien denen des Staphylococcus aureus.
„Da aber schon dem blossen Auge ersichtlich blieb, dass die
„Colonienentwicklung regelrecht von einem der Sandkörner Aus-
„gang nahm, indem jedesmal im Centrum der kreisrunden Co-
„lonien das Sandkorn vorragte und auch mikroskopisch an den
„Gelatineplatten die Entstehung der isolirten Rasen aus den
„Sandkörnern nach ihrer Lagerung gefolgert werden musste, so
„konnte ich diese Beimengung eines andern Coccus nicht recht
„annehmen. Auf Kartoffeln war ja das Wachsthum ganz den
„von RABE beschriebenen Verhältnissen gleich, aber auf Glycerin-
„Agar kam es zur Bildung von chromgelben, resp. schön orange-
„farbiger, wie Oelfarbetropfen aussehender Colonien (deren Mit-
„telpunkt jedesmal ein Kugelrasen), dass solche von denen des
„Staphylococcus pyogenes aureus absolut nicht wegzukennen
„waren. Während ferner die ersten Generationen der Gelatine-
„stichcultur (nach Uebertragung von der Platte) mit mässiger
„Verflüssigung und trichterförmiger Einsenkung gediehen, wurde
„später die Erscheinung der Verflüssigung auch den Culturen
„des Staphylococcus aureus ganz gleich. Da ich schon bei an-
„deren Fällen von Mykofibromen (Samenstrang) ähnliche Ver-
„hältnisse an den Culturen beobachtet habe und es mir scheint,
„als ob der Botryococcus in dem Aussehen seiner Culturen etwas
„variire, z. B. die Bildung des Farbstoffs bei Brütetemperatur

„(35—37) auf Agar ähnlich wie bei Staphylococcus nicht mit „der Entwicklung der Colonien schritt halte, sondern die Colo- „nien ausbleichen und erst in Zimmerwärme (oder auf 30° C.) „zurückgebracht ihre gelbe Farbe wieder bekommen, so halte „ich diese Angelegenheit noch weiterer Untersuchungen bedürftig. „Die auf ROHRBECK's viereckigen Plattenschalen von mir in „Nährgelatine gemachten Aussaaten ergaben darin grosse Ueber- „einstimmung mit Plattenculturen des Staphylococcus, als in 6 „Tagen ganz isolirt $^1/_2$—1 und 2 cm von einander entfernte „gelbbräunliche Pünktchen, nadelstich- bis stecknadelkopfgross „in der Tiefe entstanden, um welche bis zum 10 Tage eine „napfartige Verflüssigung der Gelatine sich bemerkbar machte. „Durch Confluenz der Verflüssigungstellen, wobei die verflüssigte „Partie ganz klar blieb, kam es dazu, dass bei Bewegung der „Platte die Colonien hin- und herliefen. Es bestand also kein „einfaches Sediment am Grunde der Verflüssigungsstellen, sondern „die Colonien repräsentirten einen Ballen, der bis zum 10. Tage „Stecknadel- bis Hirsekorngrösse angenommen hatte, und wobei „die kleinern rund, die grösseren von drusig-höckeriger Form „waren. Diese Ballen rollten wie Quecksilberkügelchen bei Schief- „haltung der Plattenschale hin und her und trennten sich erst bei „Berührung mit der Oese und mehrfachem Schütteln zu gleich- „mässig körniger Trübung der Gelatine. Mit schwacher Vergrös- „serung besehen erschienen die Colonien als drusige schwarzbraune „Klumpen, mit dem Deckglass zerdrückt zeigten sie jedesmal im „Centrum die gleichen kuglig in Brombeerform gruppirten Rasen, „wie solche im Aussaatmaterial (Muskel und Lunge vom Pferd) „zu sehen gewesen, und diese Rasen sind umgeben von einer „dichten Micrococcenanhäufung, welche durch den Deckglasdruck „zu Streifen und blasigen Massen ausgebreitet wurde. Bei der „Uebersaat solcher isolirter Colonien in Gelatine zur Stichcultur „ist dann wie erwähnt ein dem Staphylococcus pyogenes aureus „conformes Wachsthum eingetreten. Insoweit ich theils mit dem „sandkornhaltigen Safte der Lungenknoten, der Muskel-, Samen- „strangwucherungen vom Pferde, theils mit den beschriebenen „Reinculturen schon Impfungen an kleinen Versuchsthieren, (Mäu-

„sen, Meerschweinchen, Kaninchen, auch dem Schafe) unternahm, „war der Erfolg so, dass mir die Wirkungsweise, wenn cutane „oder subcutane Impfung gewählt wird, nicht regelmässig zu sein „scheint, indem das eine Mal nur sparsame locale Eiterung (bei „Kaninchen die Bildung kleiner käsiger Heerde), das andere Mal „überhaupt kein Effect (Mäuse), ein ander Mal wieder eine In„toxication daraus hervorgeht, wie auch bei RABE'S Versuchen „bei Meerschweinchen theils Septikämie, theils Gesundbleiben „(l. c. S. 150) beobachtet wurde. Indess habe ich die Wirkungs„weise auf kleine Versuchsthiere hier noch zu wenig durchge„prüft, um mir Schlüsse auf die Verwandtschaft oder Differenz „der in Frage kommenden beiden Microphyten zu gestatten. Ich „will deshalb nur auf den Umstand aufmerksam machen, dass „die auf Agar in isolirten sattgelben Colonien gewonnenen Mi„crococcen bei subcutaner Infection von $^1/_2$ ccm der mit steri„lisirtem Wasser bewerkstelligten Aufschwemmung bei *Tauben* „und bei einer *Ente* von der Impfstelle aus toxisch wirkten. Die „Tauben und die Ente, welche an der Brust subcutan geimpft „wurden, krepirten über Nacht. Bei den Tauben erscheint am „Cadaver dann die Brusthälfte an der die Impfstelle gelegen, „sehr aufgedunsen (keine knotige Prominenz wie bei Hühner„cholera), das Unterhautzellgewebe ist ödematös, die Muskulatur „an der Impfregion auffallend gelbbraun, saftig mürbe im Ge„gensatz zur dunkelbraunrothen normalen Muskelmasse der „anderen Seite. Bei der Ente ist ebenfalls die Impfstelle auf„geschwollen, das Fleisch darunter in Fingerdicke gelbbraun trüb „und fast speckig, die innern Organe zeigen keine wesentliche „Anomalie ausser vereinzelten Blutungen der serösen Häute und „einige Injectionsröthe des Darmes, indessen zeigte eine Taube „im Herzbeutel eine Anhäufung seröser Flüssigkeit, den Darm „blutroth gefärbt und darin blutigen Chymus. Mikroskopisch sind „in dem Muskel- und Unterhautgewebssaft in Masse die Coccen „diffus vertheilt aufzufinden, während das Blut ganz frei scheint, „damit deckt sich auch das Ergebniss von Culturanlagen, indem „aus dem Muskelsafte angelegte Culturen in Bälde auf Kartoffeln „und Agar die gelben Colonien in Menge entstehen liessen,

„während die Aussaat von Blut das Agar und die Kartoffeln „keimfrei liessen (auch im Brütofen).

„Eine mit Muskelsaft (und Herzblut) der krepirten Taube an „neuen Tauben vorgenommene Impfung (Lancette) hatte keinen „krankmachenden Effect. Es scheint demnach nur bei grösserer „Dosirung die toxische, von örtlicher Vermehrung des Virus „abhängige Wirkung einzutreten. Ein Versuch lehrte mich, dass „dieser Microphyt auch nach Injection seiner Reincultur in die „Cysterne des Kuheuters eine ziemlich heftige Mastitis zu erzeu- „gen im Stande ist, worüber ich des genaueren ein andermal „berichten werde.

„Hatten schon die Culturmerkmale des hier behandelten Micro- „phyten auf mich den Eindruck gemacht, dass ich mich nicht des „Gedankens entschlagen konnte, der sogen. Micrococcus botryo- „genes alias ascoformans sei nichts anderes oder höchstens eine „Varietät des Staphylococcus pyog. aur., so bin ich durch den „Erfolg einer am *Pferde* vorgenommenen Impfung noch mehr „in dieser Ansicht bestärkt worden. Am 11. April injicirte ich „von einer im Brütofen bei 30° goldgelb gewachsenen Cultur 5. „Gen., welche mit sterilisirtem Wasser aufgeschwemmt wurde, „ungefähr $2^1/_2$ cm einem Pferde subcutan am Halse. Es entwi- „ckelte sich davon eine empfindliche Anschwellung der Impfstelle, „welche bis zum 17. April in abgerundeter Form Faustgrösse „annahm. An diesem Tage brach die bereits einige Zeit vorher „fluctuirende Geschwulst spontan auf und sickerte daraus ein „dünnflüssiger gelbbrauner Eiter ab. Durch gelinden Fingerdruck „auf die Peripherie der Geschwulst brachte ich reichlich Eiter- „flocken aus der Abscessöffnung zum Vorquellen und fing die- „selbe in einem sterilisirten Glas auf. Mikroskopisch untersucht „zeigten sich neben massenhaften Eiterzellen nur freie Micro- „coccen, keine Kugelrasen. Mit dem Eiter wurden auf Kartoffel „Culturen und Agaraussaaten gemacht. Hier gediehen in wenigen „Tagen im Brütofen und Zimmer orangegelbe Colonien vom „Charakter der Culturen des Staphyloc. aur. pyog., nur nicht „so prominent und saftig auf den Kartoffeln, wie es für den „genannten Eitercoccus bekannt, sondern mehr als niedriger

„reifartiger Belag (wie auch die früheren Culturen des Botryo-„coccus). Die Hautdecke über der Abscesshöhle am Halse des „Pferdes begann zu mortificiren und fiel bis zum 23. April von „selbst ab, eine 4 cm lange, 3 cm breite granulirende, rothe „Fläche zurücklassend, welche mit gelbem, schleimigem Eiter „belegt blieb, und wobei die Hauträndер sich mit vertrocknenden „Eiterkrusten bedeckten. Die Wundfläche begann zu vernarben „so dass am 12. Mai an ihrer Stelle ein bleistiftdicker, quer über „die Halsfläche (dorso-ventral) ziehender Narbenwulst zugegen, „welcher theilweise von $^1/_2$ cm breitem trockenen Schorfe über-„deckt war, theilweise junge haarlose Epidermisdecke besass. „Bis zum 5. Juni bildete sich nun an dieser vernarbten, mit „weissgrauer Epidermis bedeckten noch immer bleistiftdicken „ehemaligen Impfstelle an ihrem Ende je eine feste taubeneigrosse „neue knotige Anschwellung aus, wovon der ventrale Knoten „fluctuirte, bei Druck aufplatzte und einen gelblichbraunen schlei-„migen Eiter entleerte, der auch keine Rasen, resp. Sandkörner, „sondern nur Einzelcoccen und hüllenlose Coccengruppen ent-„hielt. Dieser Abscess schloss sich im Verlauf der weiteren Tage „von selbst, der obere im andern Winkel der Narbe stehende „Knoten blieb unverändert. Ende Juli konnte nun an der Impf-„stelle eine Veränderung beobachtet werden, welche die Zweifel „zu beseitigen im Stande war, die mir bereits aufzusteigen be-„gannen, insofern als der bisherige Effect der Impfung ein etwas „anderer gewesen, als nach den von RABE beschriebenen Imp-„fungen am Pferde zu erwarten stand [1]). Es kam nämlich neben „der Narbe, und zwar 4 cm von dem dorsalen alten Knoten „entfernt eine knotige Eruption zu Stande, welche haselnussgross „wurde und nach Ausfall der Haare an circumscripter Stelle der „Haut als granulöse, oberflächlich leicht eiternde Wucherung „durchbrach, nebendem bestanden in beiden Winkeln der Narbe „noch die ursprünglichen zwei knotigen Verdickungen fort. Als

---

1) „Uebrigens hat RABE bei dem S. 146 seiner Abhandlung mitgetheilten Versuch „am Pferde auch vorerst eine eiterige Entzündung der Impfstelle und auf diese „folgend die Entwicklung sehr kleiner Mykofibrome entstehen sehen."

„ich in der ersten Augustwoche von München abwesend war, „krepirte das Pferd, welches mittlerweile wiederholt zu Aderlässen „benutzt war, an allgemeiner Anämie. Herr Assistent HÖFLICH, „welcher die Section vornahm, fand ausser den localen Verände- „rungen, die Folge der Impfung gewesen sind, keine auf die „Botryomykose Bezug habende Anomalie, constatirte aber, dass „die beiden in der Narbe befindlichen und der in 4 cm Entfernung „von der Narbe sitzende Knoten ausgesprochen die Charaktere „des Mykofibroms an sich trugen, zumal als Inhalt die typischen „brombeerartigen Coccenconglomerate aufwiesen. Ein paar Tage „später bekam ich das betreffende ausgeschnittene Hautstück zu „Gesichte und konnte mich davon überzeugen, dass die Kugel- „rasen in schönster Form in den etwa haselnussgrossen central „erweichten Granulationsknoten enthalten waren, sonach der „Process einer chronischeitrigen Entzündung doch mit Entwick- „lung des gewünschten, allerdings verhältnissmässig kleinen Myko- „fibroms seine Fortsetzung bekommen hatte.

„Wenn man diesen Verlauf der Impfung beim Pferde, ferner „überhaupt den Entstehungsmodus der so häufigen, traumatischen, „chronischen, eitrigen-granulösen Entzündungen am Widerrist, „Hals, Bug etc. des Pferdes bedenkt, deren Produkt zuletzt eine „Granulationswucherung ist, die man jetzt Mykofibrom nennt, so „wird man sich mehr oder weniger zur Ansicht neigen müssen, „dass Mykofibrome und einfache Granulationswucherung offener „Wunden in Form des Caro luxurians, als sogen. fungöse und „excessive Granulationen, aequivalente Dinge sind. Die Bezeich- „nung Mykofibrome rechtfertigt sich nur insoferne, als der anato- „mische Habitus der Granulationswucherung einige Besonderheiten „und die eigenartige Wuchsform der Microphyten innerhalb der „Gewebe des Pferdekörpers ihr Charakteristicum haben. Man „kann sich aber jene Besonderheiten einfach aus der ausgespro- „chenen Chronicität des Processes, weil die Bildung des Keim- „gewebes, welches theilweise fibrös wird, theilweise puriform „erweicht, eine langsame und stetig andauernde ist, erklären, „insoferne das Irritament der eitrig-granulirenden Entzündung, „der Coccus, in dem Gewebe verbleibt und durch Lymphbanen

„tiefer dringt, und man sich denken kann, dass bei normaler „Benarbung, normalem Ablauf der Heilung von Quetschwunden „etc. die Microphyten aus der Wundfläche eliminirt werden.

„Es ist zweckmässig, sich in Erinnerung zu bringen, wie viel„seitig die Wirkung des Staphylococcus pyog. aureus ist, welcher „ebensowohl der Erreger einfacher oberflächlicher traumatischer „Eiterungen, wie intensiver maligner Eiterungsprocesse an Periost „und Knochen, Erzeuger verrucös-ulceröser Endocarditis, maligner „Pyämie etc. sein kann, und sich mit dem Gedanken vertraut „zu machen, dass unser Microphyt vielleicht nur der gewöhn„liche Eitercoccus, d. h. dieser Staphylococcus ist. Die Grup„pirung zu Kugelrasen hat nichts Befremdendes und gibt dieses „Merkmal allein nicht Grund genug eine besondere Species zu „formiren, wenn anders die sonstigen Merkmale auf eine Identität „mit bereits bekannten Microorganismen hinweisen [1]). Denn die „Abgrenzung zu Kugelrasen innerhalb der Gewebe des Pferde„körpers geht wohl parallel der Gruppirung des Micrococcus „tetragenus und ist wie auch aus RABE's Versuchen bei anderen „Thieren hervorgeht, nur im Pferdekörper zu beobachten, also „von dem Boden, auf dem der Coccus wächst, und den Verhält„nissen, unter denen er sich befindet, abhängig, daher eine blosse „Wuchsform, eventuell sogar eine Involutionsform des in der „Tiefe der Organe zu relativ anärobem Dasein verurtheilten „Micrococcus, worauf die meist eintretende Verkalkung der Rasen „hinzuweisen scheint. Der in Voraufgehendem beschriebene Imp„fungsversuch beim Pferde deutet auf solche Sachlage sehr offen„kundig, indem die Injection zuerst subcutane Eiterung veran„lasste, in dem abfliessenden Eiter nur freie hüllenlose Coccen „zu finden waren, dann späterhin in der Tiefe des knotenförmig „wuchernden Granulationsgewebes die Coccen zu Kugelrasen „conglomerirt sich vorfanden.

---

1) „Ueber die Nichtverwerthbarkeit der Zoogloeabildungen zur Abgrenzung von „Gattungen und Arten und die Vorsicht, welche man in der Neubezeichnung von „Formgattungen walten lassen möge, siehe HÜPPE, Die Formen der Bacterien, Wies„baden, 1886. Botryomyces hatte ganz gut vorläufig bei Ascococcus Platz gefunden."

„Vom klinisch-anatomischen Standpunkte aus ist die Beibe-
„haltung der Bezeichnung Mykofibrom recht passend als Ausdruck
„für eine besondere Erscheinungsform chronischer Granulations-
„wucherung (mit dem Begriff einer Granulationskrankheit BILL-
„ROTH's), auch der grobe und mikroskopische Fund von Kugelrasen
„behält für die Diagnostik ihren Werth, und schliesslich ist die
„Specialbezeichnung derselben „vorläufig" nicht zu umgehen, weil
„es sich um ein besonderes Krankheitsbild, das sie hervorbrin-
„gen, handelt, ähnlich wie man von Kaninchenseptikämie, Ge-
„flügelcholera, Schweineseuche, Rinderseuche spricht, die alle
„durch Microorganismen einerlei Wuchsform und einerlei Cul-
„turmerkmale verschuldet sind; aber die erörterten Uebereins-
„stimmungen nöthigen zur neuen Inangriffnahme von Untersu-
„chungen, damit man einheitliche ätiologische Gesichtspunkte
„für die mit Eiterung und offener Granulation einhergehenden
„Entzündungen bekommt.

„Die Frage der Identität des Botryococcus (alias Botryomyces,
„sive Micrococcus botryogenes, sive ascoformans) wird erst ent-
„schieden werden können, wenn Vergleichsimpfungen mit dem
„vom Menschen entnommenen Staphylococcus aureus beim Pferde
„inscenirt werden, umsomehr als über die Antheilnahme des
„echten Staphylococcus an eitrigen Entzündungen beim Pferde
„zur zeit noch wenig bekannt ist.

„Nach den angeführten Momenten haben wir daher zur Zeit
„ebenso gleichwerthige Kennmale für und wider die Identität
„des Botryococcus und des Staphylococcus, daher weder die
„Trennung noch die Zusammenlegung vom ätiologischen Gesichts-
„punkt aus durchführbar ist, und wollte ich hiemit diese Frage
„nicht entscheiden, sondern nur angeregt haben."

Gewiss war es eine wichtige Frage, welche KITT anzuregen unternahm, denn Untersuchungen über die Eiterungserreger des Pferdes fehlten zur Zeit fast ganz und gar, und wurde einmal die Identität von *Botryomyces* und *Staphylococcus pyogenes aureus* erwiesen, dann war damit zu gleicher Zeit eine merkwürdige Eigenschaft des letztern, d. h. das Vermögen traubenförmige Kolonien zu bilden ans Licht gebracht.

Werthvolle Untersuchungen über die Eiterbakterien beim Pferde sind gemacht worden von HELL [1]) und später von LUCET [2]). Letzterer, welcher auch schöne Untersuchungen über die Microorganismen der Eiterung beim RINDE [3]) geliefert hat, hat keine näheren Angaben zur Determinirung des Botryomyces beigebracht. Die Untersuchungen von HELL haben jedoch in dieser Hinsicht ein sehr grosses Interesse, weil dabei die Frage der Identität von Botryomyces mit dem gewöhnlichen Eiterstaphylococcus eingehend berührt wird, und umsomehr als HELL erst sehr spät, jedenfalls nach Beendigung seiner Experimente die KITT'sche Ansicht kennen lernte.

HELL fand in verschiedenen von ihm untersuchten Fällen im Eiter des Pferdes, neben Botryomyces auch Staphylococcen und zwar fand er in 7 Fällen in demselben Eiter Botryomyces und Staphylococcus pyogenes aureus und in zwei Fällen Botryomyces, Staphylococcus pyogenes aureus und Staphylococcus pyogenes albus zusammen. In 8 anderen Fällen fand er Botryomyces ohne dass auf die gleichzeitige Anwesenheit von Staphylococcen untersucht wurde. Und nun ist HELL der Ansicht (loc. cit. S. 473), „dass „die Microorganismen aus denen sich die Botryomycesrasen zu„sammensetzen, weiter nichts als Eitercoccen sind."

Zunächst theilt er mit, dass der von ihm aus Botryomyces-Eiter gezüchtete Microorganismus nicht übereinstimmt mit der von RABE gegebenen Beschreibung des *Micrococcus botryogenes* und erwähnt dann fünf Kulturversuche mit Botryomyceseiter, in denen es ihm gelang aus dem Botryomycesrasen *viermal* den *Staphylococcus pyogenes aureus* und *einmal* den Staphylococcus pyogenes albus zu züchten.

HELL machte seine Kulturversuche in folgender Weise. Es wurde ein Botryomyceskörnchen isolirt, mit ausgeglühten Nadeln

---

1) HELL, Beitrag zur Aetiologie der Eiterung beim Pferde. Zeitschrift für Veterinärkunde, Februar 1890.

2) LUCET, Recherches bactériologiques sur la suppuration chez le cheval. Recueil de Médecine Vétérinaire, 15 Juillet 1894.

3) Recherches bactériologiques sur la suppuration chez les animaux de l'espèce bovine. Recueil de médecine vétérinaire, 15 Mai 1893.

von anhaftendem Eiter- und Granulationsgewebe befreit, in vorher aufgekochtem Wasser tüchtig gewaschen, dann in einem sterilen Gefäss mit einem keimfreien Tropfen Wasser zerrieben und hiervon je eine Oese voll auf 4 Reagensgläser mit schräg erstarrtem Glycerinagar gleichmässig über die Oberfläche ausgesät. Gleichzeitig wurden 4 Reagensgläser mit schräg erstarrtem Glycerinagar mit je einer Oese voll Eiter (ohne Botryomyces) beschickt. Der Eiter war demselben Herde entnommen aus dem der zerriebene Pilzrasen herrührte (loc. cit. S. 474). Durch dieses Verfahren hoffte HELL einerseits den Botryomyces so rein wie möglich zu kultiviren, anderseits die Bakterien in dem Eiter zu kontrolliren.

In den fünf von ihm erwähnten Versuchen war das Resultat ziemlich dasselbe, insofern in den mit Botryomyces besäten Röhrchen stets dieselben Microorganismen wuchsen wie in den mit Eiter beschickten; stets war jedoch die Zahl der Kolonien in ersteren weit grösser als in letzteren. In 4 Fällen wurde in dieser Weise aus Botryomycesrasen und aus Eiter Staphylococcus pyogenes aureus gewonnen in einem Falle Staphylococcus pyogenes albus. HELL zieht aus diesen Versuchsresultaten den Schluss, dass die *Botryomycesrasen aus Eitercoccen bestehen.*

Einige anderen von ihm gemachten Versuche ergaben ein abweichendes Resultat, indem die mit Botryomycesrasen beschickten Culturen steril blieben. HELL meint dass es sich wohl um alte, degenerirte, nicht mehr keimfähige Gebilde handelte.

Ein weiterer Beweis für seine Meinung, dass die Botryomykome durch Eitercoccen verursacht werden, kann nach HELL geliefert werden durch Impfversuche, bei welchen es gelingt durch Reinculturen von Eitercoccen künstlich Veränderungen zu erzeugen, welche den *in praxi* vorkommenden Geschwülsten (d. h. Botryomykome) in ihren Eigenthümlichkeiten gleichen.

HELL hat in dieser Hinsicht ein Pferd an zwei verschiedenen Stellen, Hals und Brust, geimpft mit Staphylococcus aureus, welchen er aus einem Botryomycesrasen gezüchtet hatte. Diese Impfungen fanden statt am 30ten Mai 1889. Am Halse entstand eine schmerzhafte, phlegmonöse Anschwellung von Handtetler-

grösse, welche nach 2 Tagen bis auf eine taubeneigrosse fluctuirende Geschwulst zurückgegangen war; diese wurde geöffnet und der röthlich gefärbte, dünnflüssige Inhalt enthielt keine Botryomyceskörner, wohl aber zahlreiche Eitercoccen. An der Impfstelle blieb eine schwielige Verdickung zurück.

Vor der *Brust* entstand in den ersten 48 Stunden eine zweifaustgrosse Anschwellung, welche sich nach unten ausbreitete, sich nach 14 Tagen aber wieder bis auf einen derben apfelgrossen, noch immer schmerzhaften Knoten an der Impfstelle verloren hatte. Letzterer wurde allmählig an Umfang geringer, so dass er nach 6 Wochen kaum noch zu fühlen war.

Diese Impfungen fanden statt an der linken Körperseite. Am 18ten Juli 1889 wurden Impfungen ausgeführt an denselben Stellen der rechten Seite. Am *Halse* nach 2 Tagen tellergrosse Anschwellung, welche später zurück ging, nicht gespalten wurde. An der Impfstelle blieb eine knotige Hautverdickung zurück. Vor der *Brust* entstand eine sehr grosse Anschwellung, welche auch hier allmählich abnahm und wovon nur ein kleiner fester Knoten zurückblieb.

Das Pferd wurde nicht weiter beobachtet, weil es während einer Reise von HELL getödtet wurde. Indess waren doch wohl (HELL giebt dies nicht genau an) gut zwei Monate nach den ersten Impfungen vorbeigegangen. In dieser Zeit waren also keine Mykofibrome als Folgen der Impfungen, welche am 30ten Mai 1889 statt fanden, aufgetreten. Ich will beiläufig auf dieses Ereigniss schon jetzt aufmerksam machen, weil bei dem zweiten von RABE erwähnten Impfversuch innerhalb zwei Monate schon ein Botryomykom entstanden war.

HELL weist weiter auf die Kulturunterschiede zwischen dem von ihm aus Botryomykomen gezüchteten Staphylococcus aureus und den Micrococcus botryogenes von RABE hin. Nach RABE wächst der Micrococcus botryogenes nicht gut auf Agar, während der Staphylococcus auf diesem Nährboden gut gedeiht. Auch in der Gelatine ist das Wachsthum verschieden, weil Staphylococcus schnell verflüssigt. HELL gibt jedoch dabei an, dass er *auch bei Staphylococcus pyogenes aureus und albus das*

kelchförmige Wachsthum, welches nach RABE für den Botryomyces charakteristisch ist, beobachtet habe.

Auf Grund der mancherlei Uebereinstimmungen in den morphologischen und biologischen Eigenschaften beider Micrococcenarten glaubt HELL jedenfalls, eine nahe Verwandtschaft zwischen Micrococcus botryogenes und Eitercoccus annehmen zu können.

Ich muss hier ausdrücklich hervorheben, das HELL in seiner Arbeit stets auf die Identität zwischen dem Botryococcus und dem Eitercoccus hinweist, aber sich nicht entschieden in betreff der Identität mit dem *aureus* oder dem *albus* ausspricht. Zwar scheint er sich der Identität mit dem *aureus* hinzuneigen, aber er spricht keine bestimmte Meinung aus. Es ist also ein Irrtum von JOHNE, wenn er mittheilt, dass HELL der Meinung zugethan ist, Micrococcus ascoformans sei identisch mit Staphylococcus pyogenes albus [1]), wenigstens ich habe diese Behauptung in der oben citirten Arbeit von HELL nicht finden können.

Aus den erwähnten, den Arbeiten von RABE, KITT und HELL sehr ausführlich entnommenen Thatsachen, welche bis heute nicht weiter ergänzt wurden, ist ersichtlich, dass man betreffs der bakteriologischen Stellung des Botryomyces noch nicht ganz einig ist. Ich habe die genannten Arbeiten *ziemlich weitläufig referirt insofern es die Teile betrifft, welche sich auf meine Untersuchungen beziehen*, weil ich später mehrmals darauf hinzuweisen genöthigt bin.

Die von RABE mitgetheilten Kultureigenschaften werden von KITT und HELL nicht in ihrem ganzen Umfang bestätigt. Während RABE angibt, dass der Micrococcus botryogenes Gelatineplatten nicht verflüssigt und in der Gelatinestichkultur in der angegebenen Weise kelchartig wächst, haben KITT und HELL ein anderes, verflüssigendes Wachsthum beobachtet. KITT scheint nicht auf Agar gezüchtet zu haben. HELL hat jedoch auf diesem Nährmedium, im Gegensatz zu RABE, gutes Wachs-

---

1) BIRCH-HIRSCHFELD, Lehrbuch der pathologischen Anatomie. I. Band. S. 521.

thum erzielt. KITT hält es für möglich, dass der Botryococcus ein Staphylococcus pyogenes aureus sei, der im Pferdekörper traubenförmige Coccenrasen bilden könne. HELL meint noch bestimmter der Micrococcus botryogenes sei ein Staphylococcus pyogenes, entweder aureus oder albus.

Ueberdies hat KITT bei Laboratoriumsversuchsthieren nicht gerade dieselben Resultate als RABE erhalten.

Es schien mir von genügender Wichtigkeit diesen verschiedenen Meinungen näher zu treten und zu versuchen sie mittelst eigener Untersuchungen auf ihre Richtigkeit zu prüfen. Zu diesem Unternehmen wurde ich um so mehr veranlasst als ich im Juni 1895, während einer bakteriologischen Untersuchung des Eiters aus einem Samenstrangbotryomykom eines Pferdes, in dem sehr viele Botryomycesrasen vorkamen, die typischen, von RABE beschriebenen Gelatinekulturen nicht erhalten konnte.

In der allerletzten Zeit, also nach dem Anfange meiner Untersuchungen, hat die Frage von der Identität von Botryomyces und Staphylococcus noch an Wichtigkeit zugenommen, weil auch Botryomycosis beim Menschen constatirt worden ist. Schon 1890 hat CSOKOR [1]) eine Botryomykose des Euters einer Kuh beschrieben und damit gezeigt, dass die Hypothese von KITT, der Botryomyces sei eine nur im *Pferdekörper* vorkommende Wuchsform des Staphylococcus aureus, durchaus nicht haltbar ist. IMMELMANN [2]) hat ebenfalls Botryomykose des Kuheuters constatirt. WILBRANDT [3]) und neuerdings auch SCHNEIDEMÜHL [4]) haben über Botryomykose beim Schweine berichtet. Ersterer fand sie als Folge der Castration am Samenstrang, letzterer fand 3 mal Botryomykose des Euters.

Die Fälle von Botryomykose beim Menschen sind aber erst vor kurzem mittgetheilt worden. Der erste wurde von FABER und TEN

---

1) CSOKOR. Un Cas de botryomycose chez le boeuf. Semaine médicale 1890, pag. 436.

2) Archiv für Thierheilkunde. Bd. XIX, 1893, S. 103.

3) Zeitschrift für Fleisch. u. Milchhygiene. Bd. IV, 1894, S. 111.

4) Centralblatt für Bakteriologie. 27. August 1898.

SIETHOFF [1]) auf Holländischem Boden observirt. Es betraf eine Botryomykose der Augenlider des rechten Auges. Die Diagnose wurde veranlasst durch das Vorhandensein der traubenförmigen Botryomycesrasen in dem mikroskopisch untersuchten Eiter [2]). Von grösserem Interesse sind die Beobachtungen von PONCET und DOR, mitgetheilt auf dem „11 Congrès français de chirurgie, tenu à Paris du 18 au 23 Octobre 1897" [3]). Sie haben Neubildungen an den Fingern, am Daumen, am Acromion der linken Schulter, im ganzen 4 Fälle beobachtet, und nicht nur die Botromycesrasen gefunden, sondern auch durch Kulturen und durch Impfung eines Esels, wobei eine Neubildung entstand, dargethan, dass sie es wirklich mit der Botryomykose zu thun hatten.

Durch diese Beobachtungen ist es natürlich von grösserer Bedeutung geworden zu wissen, ob der Botryoccus etwas mit dem Staphylococcus zu thun hat oder nicht.

---

1) Nederlandsche oogheelkundige Bijdragen. Derde Aflevering, S. 24.

2) FUCHS ist der Meinung zugethan, dass es sich in dem FABER'schen Falle um Concremente in der Bindehaut gehandelt hat (Vergleiche: VON GRAEFE's Archiv für Ophthalmologie, Bd. XLVI, Abth. I, S. 163). Nach der Beschreibung von FABER und TEN SIETHOFF zu urtheilen, hatten sie es jedoch wohl mit Botryomykose zu thun.

3) PONCET et BERARD. Traité clinique de l'actinomycose humaine. Pseudo-actinomycoses et Botryomycose. Paris 1898, S. 348.

II. Pathogene Wirkung des Micrococcus bytryogenes bei den gewöhnlichen Laboratoriumsversuchsthieren.

Anfang April 1897 wurde mir ein Pferd zur Untersuchung vorgeführt, welches an der rechten vorderen Extremität eine Menge kleiner, warzenförmiger Tumoren zeigte. Sie waren in der Köthe, an Fessel, Fesselgelenk, an der Aussenfläche des Schienbeins anwesend, von der Grösse einer Erbse bis zu der einer Nuss. Sie zeigten meistentheils eine graue Farbe und waren nicht mit Haaren versehen. Die kleineren waren ziemlich fest und nicht geöffnet; die grösseren dagegen waren weicher, zeigten meistens eine kleine Oeffnung, aus welcher bei Druck ein wenig blutiger Eiter zum Vorschein kam. Die allergrössten zeigten eine grössere Perforationsöffnung und der obengenannte blutige Eiter kam hieraus in kleiner Menge schon von selbst zu Tage.

Uebrigens zeigte die Haut des Thieres keine Abweichungen; an der Aussenfläche der rechten Schulter jedoch, etwa in der Mitte waren drei haselnussgrosse feste Knoten subcutan zu fühlen, welche fest mit der Haut verbunden waren. Die Haare waren an der Stelle nicht geschwunden.

Zuerst wurde die wahre Ursache des Leidens, welches das Thier im Dienste nicht genierte, nicht vermuthet, sondern es wurde an eine maukeartige Dermatitis gedacht. Alsbald jedoch kam der blutige Eiter, welcher spontan aus einzelnen, „bei

Druck" aus verschiedenen anderen Tumoren zum Vorschein kam, mir verdächtig vor. Es wurde ein wenig davon in ein steriles Röhrchen aufgefangen, und schon makroskopisch meinte ich darin kleine, sandkornartige weissgelbe Körperchen zu sehen. Eine mikroskopische Untersuchung zeigte alsbald, dass wir es in diesem Falle mit durch *Botryomyces* verursachten Neubildungen zu thun hatten. Dies geschah am *fünften April.*

Ich entschloss mich zu versuchen aus diesem Eiter die Botryococcen zu kultiviren.

Ein wenig Eiter, in dem mehrere Botryomycesrasen vorhanden waren wurde in Gelatine ausgesät. Das Röhrchen mit flüssiger Gelatine wurde gut und lange geschüttelt, damit die Botryomycesrasen so viel wie möglich von anhaftendem Material befreit würden, und nachher der Inhalt in eine PETRI'sche Schale gegossen.

Es wurden nun die Stellen, an welchen die sandkornartigen Botryomycesrasen lagen genauer beobachtet. Alsbald bildete sich daselbst eine Einsenkung in der Gelatine, ohne dass von wirklicher Verflüssigung die Rede war. Ausserdem waren in den Platten noch verflüssigende und nicht verflüssigende Keime zu sehen und auch Schimmelpilze. Letzteres hatte nichts Befremdendes, weil der Eiter aus den bereits eröffneten Mykofibromen verunreinigt sein musste und leicht mit Schimmelpilzen der äusseren Decke vermischt sein konnte.

Von den Stellen, an welchen die Botryomycesrasen lagen und wo die Gelatine also Einsenkungen zeigte, wurden Gelatinestichkulturen gemacht. Am 11ten April zeigten diese Gelatinekulturen alle Eigenschaften der Kulturen von Micrococcus botryogenes, wie sie von RABE beschrieben worden sind. Sie bestanden aus schönen nach GRAM färbbaren Staphylococcen. Da diese Kulturen in Gelatine in jeder Hinsicht mit den von RABE angegebenen Merkmalen übereinstimmten, überdies zweifellos aus den sandkornartigen Botryomycesrasen hervorgegangen waren, meinte ich sicher zu sein in diesem Falle den *Botryococcus* isolirt zu haben, wie sich dies auch *später durch einen Versuch bei einem Pferde in gewissem Sinne bestätigt hat.*

Neben dem Botryococcus isolirte ich aus den Gelatineplatten einen die Gelatine verflüssigenden, nach GRAM färbbaren Staphylococcus, welcher mit dem Staphylococcus pyogenes aureus des Menschen übereinstimmte, und ein kleines, dickes, ovoides Stäbchen, welches auch die GRAM'sche Färburg annahm, die Gelatine aber nicht verflüssigte.

Weil wie gesagt, der entnommene Eiter verunreinigt sein musste, ich überdies nur die echten Kulturen des Micrococcus botryogenes zu bekommen beabsichtigte, habe ich die anderen auf den Gelatineplatten gewachsenen Kulturen vernachlässigt, um mich ausschliesslich mit den typischen Botryomyceskulturen zu beschäftigen.

Das Wachsthum auf verschiedenen Nährmedien und die Wirkung bei Versuchsthieren des gefundenen Botryomyces zu studiren und die Resultate zu vergleichen mit jenen von RABE, KITT und HELL war der Zweck meiner weiteren Arbeit.

Weil es für eine gute Uebersicht jedoch nicht zweckmässig ist die wenigstens im Anfang durch einander gewonnenen Kulturresultate und die der Impfversuche gleich zu erwähnen, werde ich zuerst die Resultate der Impfungen auf verschiedene kleinere Laboratoriumsversuchsthiere folgen lassen. Dann mögen die Impfungsversuche bei Pferden und die weiteren Eigenschaften des Botryococcus, wie sie von mir observirt wurden ihre Beschreibung finden.

Wie gesagt wurde für die verschiedenen Untersuchungen der aus den Botryomycesrasen gezüchtete Micrococcus verwendet, welcher bei der Isolirung in der Gelatinestichkultur ganz und gar die Merkmale des RABE'schen Micrococcus botryogenes zeigte. Ich glaubte also annehmen zu dürfen es wirklich mit diesem Microorganismus zu thun zu haben, welche Annahme später, wie bereits erwähnt, durch eine positive Impfung bei einem Pferde eine gewisse Bestätigung fand.

Thierversuch N^{0}. 1. Am 14ten Mai wurde eine der ursprünglichen Gelatinekulturen von Botryomyces vom 11^{en} April 1897, welche also einen Monat alt war, in Bouillon übergeimpft. Am

16ten Mai erhielt von dieser Bouillonkultur ein Meerschweinchen 2½ Kubikcentimeter subcutan an der Innenfläche des rechten Hinterschenkels. Wie früher erwähnt hat RABE bei diesen Versuchtsthieren durch Botryomyces eine Septikämie auftreten sehen.

Am 18ten Mai diffuse, schmerzhafte Anschwellung der Impfstelle, welche später schärfer umschrieben wurde, am 20ten Mai nussgross war. Am 25ten Mai war noch immer eine runde, ziemlich feste Anschwellung vorhanden. Uebrigens war das Thier munter. In den folgenden Tagen blieb der Zustand ziemlich stationär; am 31ten Mai folgte während meiner Abwesenheit Durchbruch. Aus der Perforationsöffnung floss dicker zäher Eiter, worin bei mikroskopischer Untersuchung keine Botryomycesrasen zu finden waren. Weil der Durchbruch spontan statt gefunden hatte und also die Gefahr für Verunreinigung nicht ausgeschlossen war, wurde von der Verwendung des Eiters für Kulturzwecke abgesehen.

N°. 2. Am 16ten Mai wurde von einer zwei Tage alten Bouillonkultur des *Staphylococcus pyogenes aureus hominis* einem Meerschweinchen 1½ ccm an der Innenseite des rechten Hinterschenkels subcutan eingespritzt, mit dem Zweck das Resultat mit dem des vorigen Versuchs zu vergleichen. Bis zum 20ten Mai waren die Erscheinungen wie bei der vorigen Impfung; von da an wurde die Anschwellung immer geringer, war am 31ten Mai als strangförmige Verdickung noch zu fühlen und am 7ten Juni verschwunden.

Die verwendete Staphylococcenkultur war am 14ten Mai aus einer Glycerinagarkultur, welche vor wenigen Tagen einem Menschen entnommen war übergeimpft worden.

N°. 3. Ein Meerschweinchen wurde am 27ten Mai mit 5 ccm einer vier Tage alten Bouillonkultur des *Botryococcus* subcutan an der Innenfläche des rechten Hinterschenkels eingespritzt. Zwei Tage später war an der Impfstelle eine grosse, teigige, diffuse, schmerzhafte Anschwellung vorhanden, welche während einiger Tage stationär blieb, nachher weniger schmerzhaft und schärfer umschrieben wurde. Am 7ten Juni war der Impftumor nussgross und fluctuirte, indem Perforation drohte. Am 8ten Juni wurde

die Anschwellung unter antiseptischen Cautelen mittelst des Messers geöffnet. Es entleerte sich ein dicker, zähflüssiger Eiter, in dem keine Botryomycesrasen gefunden wurden. Mit dem Eiter wurden drei Gelatinestichkulturen und vier Kulturen auf Glycerinagar angefertigt. In dem Eiter waren nach GRAM färbbare Coccen vorhanden, mit denen in den ursprünglichen Kulturen identisch.

Am 14ten Juni waren die Gelatine-Kulturen rein gewachsen. Kelchbildung hatte in der Gelatine nicht stattgefunden; es war jedoch Verflüssigung aufgetreten in der Weise wie dies bei den gewöhnlichen Eiterstaphylococcen stattfindet. Die Glycerinagarkulturen, bei Zimmertemperatur gezüchtet, waren schön goldgelb, denen des Staphylococcus aureus ähnlich.

Weil der Abscess von den eingepritzten Botryococcus herrühren musste, überdies aus dem Eiter die eingespritzten Micrococcen *rein* gezüchtet wurden, waren die gewonnenen Kulturen als solche des Botryomyces aufzufassen. Die Kelchbildung in der Gelatine war zwar nicht anwesend, doch diese hängt von verschiedenen Umständen, welche später erörtert werden sollen, ab.

N°. 4. Am 27ten Mai erhielt ein Meerschweinchen 5 ccm einer 4 Tage alten Bouillonkultur von demselben Staphylococcus pyogenes aureus, welcher in N°. 2 verwendet wurde, subcutan an der Innenfläche des rechten Hinterschenkels, zum Vergleich mit Versuch N°. 3. In den ersten Tagen waren die Erscheinungen dieselben, am 31ten Mai fing die Anschwellung an abzunehmen. Am 7ten Juni hatte der Impftumor stark abgenommen und am 19ten Juni war er verschwunden.

N°. 5. Einem Hunde wurde 5 ccm einer 20 Tage alten Botryomyces-Bouillonkultur, 2er Generation, am 13ten Juni an der Innenfläche des rechten Hinterschenkels intraparenchymatös injicirt. Ausser unbedeutenden Schmerzen hat das Thier nichts Abnormes gezeigt.

Die Thierversuche mit *Staphylococcus pyogenes hominis* wurden weiter bei Seite gelassen und die Experimente nur mit Botryococcus fortgesetzt. Später werden einige Versuche mit Staphylococcus pyogenes aureus und albus Erwähnung finden (vgl. S. 58 ff.).

N°. 6. Aus einer der ursprünglichen Botryococcuskulturen vom 11ten April 1897 war am 24ten Mai ein zweites Gelatineröhrchen geimpft worden. Von dieser 2ten Generation war am 25ten Juni eine dritte Generation in Rinderbouillon angelegt und von dieser Bouillon wurde am 1ten Juli 1897 einem erwachsenen Meerschweinchen 5 ccm an der Innenfläche des rechten Hinterschenkels subcutan injicirt. Am dritten Juli war an der Impfstelle eine ziemlich grosse, heisse Anschwellung zu sehen, welche am 7ten Juli nur wenig zurückgegangen war. Am 10ten Juli war der Impftumor ziemlich fest, mehr umschrieben; von Fluctuation war wenig zu fühlen. Am 14ten Juli war die Anschwellung nur wenig kleiner. Am 18ten Juli wurde sie eingeschnitten und es entleerte sich schöner, dicker Eiter, ohne Botryomycesrasen. Nach der Operation trat alsbald Heilung der Wunde ein.

Ein Deckglaspräparat des Eiters, nach der GRAM'schen Methode gefärbt, zeigte die Botryococcen. Gelatinestichkulturen wuchsen rein und darunter eine in der bekannten Kelchform, die anderen verflüssigend wie Staphylococcus. Glycerinagarkulturen waren ebenfalls rein und nahmen alsbald eine Goldfarbe an wie Staphylococcus pyogenes aureus. Ohne Zweifel also waren die gezüchteten Kulturen reine Botryococcenkulturen.

N°. 7. Ein junges Meerschweinchen erhielt am 1ten Juli 5 ccm derselben Bouillonkultur, mit welcher N°. 6 geimpft worden war, intraperitoneal. Das Thierchen wurde sehr krank und war am dritten Juli, also innerhalb 48 Stunden, gestorben. Bei der Obduktion ergab sich: haemorrhagisches Oedem unter der Haut der Bauchwand, seröse Flüssigkeit mit einzelnen Fibrinmassen in der Bauchhöhle; die Baucheingeweide hie und da bedeckt mit Fibrinfäden. Am grossen Netz war an einzelnen Stellen Eiterung zu sehen; ziemlich viel Eiter befand sich zwischen Magen und Milz. Vom diesem Eiter wurde ein Deckglaspräparat angefertigt und zwei Glycerinagarkulturen angelegt. Das Präparat zeigte die eingepritzten Coccen in grosser Quantität. Die Glycerinagarkulturen wuchsen rein mit goldgelber Farbe, wie Staphylococcus aureus.

N°. 8. Am 1sten Juli 1897 wurde einem erwachsenen Kaninchen welches am 6ten Januar 1897 in die beiden vorderen

Augenkammern mit *Staphylococcus pyogenes bovis* [1]) geimpft worden war, 5 ccm derselben Bouillonkultur wie in den beiden vorigen Experimenten, subcutan an der Innenfläche des rechten Hinterschenkels eingespritzt. Das Thier zeigte in den folgenden Tagen keine Krankheitssymptome und auch an der Impfstelle war wenig Abnormes zu sehen. Am 13ten Juli war das Thier sehr munter, und an dem geimpften Gliede war wenig mehr zu entdecken, höchstens eine nicht scharf umschriebene diffuse Anschwellung; das Thier war aber abgemagert. Am 18ten Juli war das Thier munter, sehr mager und an der Impfstelle war in der Tiefe eine schmerzhafte Anschwellung zu fühlen. Dieselbe hatte am folgenden Tage merkbar zugenommen. In den folgenden Tagen nahm sie etwas ab und am 25ten waren bloss zwei schmerzhafte Knötchen übrig geblieben. Das in der Nähe sich befindende Kniegelenk war jedoch entzündet, schmerzhaft und geschwollen. Am 26ten Juli wurde das Kaninchen mittelst des Genickschlages getödtet. Bei der Obduktion wurden sämmtliche Organe normal befunden, mit Ausnahme der Augen (siehe S. 26 u.) und der Lungen, welche subpleural schöne Exemplare von *Pentastomum denticulatum* zeigten.

Hinter dem Kniegelenk befanden sich in und zwischen den Muskeln viele grössere und kleinere, mit zähem Eiter versehene Abscesse; der grösste war fast nussgross. Aus dem geschwollenen Gelenk floss beim Einschneiden dünner, blutiger mit Synovia vermischter Eiter aus. Bei weiterer Oeffnung wurde auch sehr dicker, zäher Eiter gefunden. In dem Eiter befanden sich keine Botryomycesrasen.

Aus den Abscessen wurden 3 Gelatine- und 1 Glycerinagar-Kulturen angelegt; dasselbe geschah aus dem Eiter des Kniegelenkes. Ein Deckglaspräparat wurde je mit Abscess- und Gelenkeiter angefertigt. Bei der mikroskopischen Untersuchung wurden keine *Coccen* gefunden.

Die angelegten Kulturen zeigten in den folgenden Tagen kein

---

1) D. A. DE JONG, Über Staphylococcus pyogenes bovis. Centrallblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infectionskrankheiten, No. 1, 2, u. 3, 1899.

Wachsthum. Gewöhnlich kommen die Botryococcen schon innerhalb 4 Tagen, meistens früher auf. In diesem Falle nicht. Erst am 9ten August war in einer der Gelenkkulturen auf Glycerinagar ein spärliches Wachsthum zu sehen. Es hatten sich drei nahe an einander liegende Kolonien gebildet, welche aus Staphylococcen bestanden. Ein hiermit geimpftes Gelatineröhrchen zeigte am folgenden Tage schon das typische kelchartige Wachsthum von Botryococcus. Auch war am 9ten August in einem der aus dem Kniegelenk geimpften Gelatineröhrchen eine schöne Kelchkultur zu sehen.

Die anderen Kulturen waren steril geblieben.

Wir müssen also annehmen dass in diesem Falle der Botryococcus zur Eiterung und Abscessbildung geführt hat, dass jedoch der Coccus in dem Kampf gegen den Organismus des Kaninchens unterlegen ist. In den Abscessen war der Spaltpilz gar nicht mehr lebensfähig anwesend, in dem Kniegelenk sehr spärlich und mit so wenig Vitalität, dass die Kulturen geraumer Zeit bedurften um ein merkbares Wachsthum zu zeigen.

Dass der Botryococcus bei Kaninchen zur Abscessbildung führen kann ist noch durch eine spätere Wahrnehmung bestätigt worden.

N°. 9. Ebenfalls am 1sten Juli 1897 und von derselben Bouillonkultur wie in den vorigen Fällen erhielt ein junges, nicht erwachsenes Kaninchen 5 ccm in die Bauchöhle. Am 3ten Juli war das Thierchen sehr munter. Nachher wurde es aber traurig, die Fresslust verminderte sich und während der Nacht zwischen dem 5ten und 6ten Juli starb es. Bei der Sektion wurden nur im Abdomen Veränderungen wahrgenommen. Ausser *Cysticercus pisiformis* in der Bauchhöle und *Coccidium oviforme* in der Leber, war das Mesenterium gelatinös geschwollen und enthielt verschiedene, sehr kleine Abscesse. Ueberdies waren in den Ligamenta hepato-gastricum und gastro-duodenale Eitermassen zu finden.

Aus dem Eiter der Abscesse, welcher keine Botryomycestrauben enthielt wurden drei Kulturen auf Glycerinagar angefertigt. Zwei Deckglastrockenpräparate zeigten sehr schön die eingespritzten

Botryococcen. Am 8ten Juli waren die Kulturen sehr spärlich, aber schön goldgelb gewachsen.

Die Impfversuche auf Kaninchen haben ein gewisses Interesse, weil RABE diese Thiere bei seinen Untersuchungen wohl verwendet, die Resultate jedoch nicht veröffentlicht hat (loc. cit. S. 151) während KITT behauptet (loc. cit. S. 12) bei Kaninchen, nach cutaner oder subcutaner Impfung, kleine, käsige Herde zum Vorschein gerufen zu haben. Aus den zwei mitgetheilten bei Kaninchen vorgenommenen Impfungen ist zu schliessen, dass die Botryococcen für diese Versuchsthiere nicht erheblich virulent sind, obgleich die eingespritzten Quantitäten Bouillonkultur ziemlich gross waren.

Um die Virulenz der Botryococcen, welche den Körper eines Meerschweinchens bereits passirt hatten, mit der der ursprünglichen Botryococcen, welche in den Versuchen N°. 6, 7, 8 und 9 verwendet wurden zu vergleichen, habe ich diese Versuche am 4ten Juli mit den erstgenannten Botryococcen wiederholt.

Eine Glycerinagarkultur vom Meerschweinchen, welches am 27ten Mai geimpft worden war, angelegt am 8ten Juni aus dem Eiter des künstlich geöffneten Abscesses, war am 15ten Juni in Gelatine übergeimpft worden. Letztere Kultur war am 25ten Juni in Rinderbouillon übergeführt; diese Kultur war also eine dritte Generation des aus dem Meerschweinchenkörper stammenden Botryococcus; sie diente zu den folgenden Versuchen:

N°. 10. Am 4ten Juli wurden von der soeben genannten Bouillonkultur, welche also 9 Tage alt war, einem erwachsenen Meerschweinchen 5 ccm an der Innenfläche des rechten Hinterschenkels subcutan eingespritzt. Entzündungsschwellung in den folgenden Tagen. Am 10ten Juli war der Impftumor umschrieben und ziemlich fest und nahm dann ein wenig ab. Dieses Versuchsthier verhielt sich also gerade wie N°. 6. Der Abscess wurde daher auch am 18ten Juli geöffnet. Es entleerte sich schöner, dicker Eiter, ohne Botryomycesrasen. Ein Deckglastrockenpräparat zeigte schön die nach GRAM färbbaren

Botryococcen. Glycerinagar- und Gelatinestichkulturen wurden angefertigt. Am 18ten Juli waren diese Kulturen rein gewachsen, die Agarkulturen goldgelb wie Staphylococcus aureus, die Gelatinekulturen theilweise mit typischer RABE'scher Kelchbildung, theilweise mit der dem Staphylococcus eigenthümlichen Verflüssigung.

N°. 11. Am selben Tage erhielt ein *junges* Meerschweinchen 5 ccm von derselben Kultur ins Abdomen. Das Thier war am folgenden Tage krank, der Bauch war schmerzhaft und gespannt; der Zustand verärgerte sich und am 7ten Juli war das Thier sehr krank; danach trat Besserung ein und am 9ten Juli war das Thier wieder munter. Um die Impfstelle am Bauch jedoch war eine Anschwellung zu sehen. Am 13ten Juli wurde ein pfennigstückgrosses Hautstück gangraenös abgestossen, und in den folgenden Tagen zeigte sich am Bauch, hinter der nekrotischen Stelle, ein ziemlich grosser Abscess, welcher spontan perforirte, und dicken Eiter ausfliessen liess. Dieser Eiter wurde nicht näher untersucht. Am 18ten Juli war das Thier geheilt. Offenbar hatte das Thier die intraperitoneale Impfung überstanden, während die Hautgangrän und die Abscessbildung die Folge von bei der Impfung unter die Haut gelangten Botryococcen sein musste. Ein anderes Resultat also als in N°. 7.

N°. 12. Ein erwachsenes Kaninchen erhielt am 4ten Juli subcutan an der Innenfläche des linken Hinterschenkels 5 ccm der erwähnten Bouillonkultur. Das Thier zeigte in den folgenden Tagen keine Abweichungen, auch nicht an der Impfstelle. Am 13ten Juli war an der Impfstelle eine diffuse Anschwellung vorhanden, und das Thier war sehr abgemagert. Das Kaninchen wurde in den folgenden Tagen nicht genau beobachtet; am 18ten Juli war die Abmagerung so auffallend stark, dass ich eiligst die Impfstelle untersuchte, jedoch zu spät, denn es waren dort zwei Abscessöffnungen zu sehen, die eine von älterem, die andere von jüngerem Datum. Eine grosse Menge zähen dicken Eiters liess sich herausdrücken; Botryomycesrasen waren nicht vorhanden; die Abscesshöhlen waren sehr tief. In einem Deckglaspräparat

des Eiters wurden keine Coccen, wohl aber Stäbchen gefunden. Mittelst Plattenkulturen wurde constatirt, dass diese Stäbchen in reiner Kultur in dem Eiter anwesend waren. Ich habe die Natur dieses die Gelatine verflüssigenden Microorganismus nicht weiter erforscht, weil ich es für einen zufällig eingedrungenen Spaltpilz, welcher mit der Ursache der Eiterung principiell nichts zu thun hatte, hielt. Es ist sehr zu bedauern, dass das Versuchsthier nicht genauer kontrollirt worden war, denn jetzt war die Wirkung des Botryococcus nicht fest zu stellen. Ich nahm mir jedoch vor den weiteren Verlauf des Processes genau zu beobachten. Die Eiterungen an der Innenfläche des Schenkels breiteten sich immer mehr aus. Am 25ten Juli war das Kniegelenk sehr geschwollen. Die Wunden wurden mit Phenollösung behandelt. Es traten erhebliche Blutungen aus denselben auf, und am 1sten August wurde das Thier todt gefunden, offenbar an einer heftigen Verblutung gestorben.

Der Cadaver war sehr anaemisch und zeigte in den Körperhöhlen keine anderen Abweichungen als einen nussgrossen verkalkten Abscess zwischen Magen und Milz.

In den Muskeln an der Hinterfläche des geimpften Schenkels wurden viele Abscesse mit Oeffnungen nach aussen gefunden. Das Kniegelenk hatte eine blau-graue gangränöse Verfärbung, besonders an der Innenseite. Im Gelenk fand sich viel dicker, käsiger Eiter ohne *Bytryomycesrasen.* Aus diesem Eiter, und aus einem, augenscheinlich, gut abgeschlossenen Muskelabscess wurden Glycerinagarkulturen angelegt, welche am 6ten August gut gewachsen waren. Die angefertigten Deckglaspräparate zeigten, dass in der Abscesskultur Micrococcen und Stäbchen gemischt vorkamen, in der Gelenkkultur jedoch nur Botryococcen. Aus der Gelenkkultur wurden Platten angefertigt, worin nur Botryococcenkulturen zu finden waren, welche im Gelatinestich ein schönes kelchbildendes Wachsthum zeigten.

Der verkalkte Bauchabscess wurde nicht näher untersucht. Offenbar war bei diesem Versuchsthier die primitive Eiterung durch den Botryococcus erregt worden. Nach der Perforation eines Abscesses hatte wahrscheinlich das Stäbchen Eingang

gefunden und vielleicht die Veranlassung gegeben zu dem bösartigen Charakter der Eiterung.

In diesem Falle war das Resultat abweichend von dem des Versuchs N°. 8, weil bald spontane Perforation gefolgt war.

N°. 13. 5 ccm Bouillonkultur, dieselbe wie in den drei vorstehenden Versuchen, wurden am 4ten Juli einem jungen Kaninchen ins Abdomen gespritzt. Das Thier starb innerhalb 24 Stunden. In der Bauchhöhle eine ziemlich grosse Menge blutigen Exsudats. Das grosse Netz eitrig infiltrirt. Peritoneum entzündet und hie und da mit fibrinösem Belag. Leber mit *Coccidien*. Die übrigen Organe, hyperaemisch, geschwollen, sonst normal. Offenbar war das Thier einer septischen Peritonitis erlegen. Die aus dem Netze angelegten Kulturen zeigten am 8ten Juli schöne Kulturen von Botryococcen. In diesem Falle war der Tod also schneller eingetreten als bei N°. 9.

Aus den beschriebenen Versuchen geht hervor:

1. dass der Botryococcus subcutan bei Meerschweinchen zur Ascessbildung führen kann (N°. 1, 3, 6 und 10);

2. dass er bei jungen Meerschweinchen intraperitoneal verimpft, entweder den Tod, oder vorübergehende Krankheit verursachen kann (N°. 7 und 11);

3. dass er junge Kaninchen bei intraperitonealer Impfung tödten kann (N°. 9 und 13);

4. dass er subcutan bei erwachsenen Kaninchen zur Eiterung führt (N°. 8 und 12);

5. dass ein erwachsener Hund bei subcutaner Injection nur wenig reagirt (N°. 5);

6. dass die Virulenz der ursprünglichen Botryococcen und die der aus dem Meerschweinchen gezüchteten so ziemlich dieselbe ist.

Zur näheren Orientirung in betreff der pathogenen Wirkung des Botryococcus erschien es mir erwünscht die Thierversuche weiter zu verfolgen.

Am 30ten Juli 1897 wurden die Glycerinagarkulturen aus dem Abscess des am 4ten Juli geimpften Meerschweinchens, welche rein gewachsen und am 18ten Juli angelegt waren, übergeimpft

in neue schräg erstarrte Glycerinagarröhrchen. Am 2ten August waren diese Kulturen schön aufgekommen. Einzelne Röhrchen wurden bis zur Höhe des Agars mit sterilisirtem destillirtem Wasser gefüllt und geschüttelt; die in dieser Weise gewonnene Bakteriensuspension sollte zu Impfversuchen verwendet werden.

N°. 14. Am 2ten August wurde einem jungen Kaninchen 2 ccm der erwähnten Flüssigkeit unter die Haut am Brustbein injicirt. Am folgenden Morgen diffuse Anschwellung an der Impfstelle; das Thier is traurig, frisst nicht. Mittags $4^1/_2$ Uhr ist die Schwellung gering, die Haut an der Stelle roth gefärbt, Thier sehr krank. Am 4ten August morgens wird das Kaninchen todt in dem Käfig gefunden. Obduktion $10^1/_2$ Uhr.

Blutig-eitrige Infiltration an der Impfstelle. Im Abdomen eine kleine Quantität trüber, nicht hämorrhagischer Flüssigkeit. Grosses Netz eitrig infiltrirt. Auf dem Magen eitrige Flocken. Am Netz Exemplare von Cysticercus pisiformis. Bauchorgane blutreich, sonst normal, mit Ausnahme der Leber, welche Coccidien enthält. In der Brusthöhle trübes, eitriges Exsudat auf der Innenfläche des Brustbeins. Fibrinöser Belag auf dem Pericardium, in welchem eine klare Flüssigkeit. Lungen und Herz blutreich, sonst keine Veränderung.

Offenbar hat sich die phlegmonöse Entzündung an der Impfstelle durch die Brust- und Bauchwandung hindurch auf Pleura und Peritoneum fortgepflanzt.

Kulturen wurden angelegt aus dem Eiter des grossen Netzes, aus Milz, Leber, der rechten Herzkammer und dem Exsudat in der Brusthöhle. Am 10ten August waren die Kulturen aus Netz, Milz und Leber reichlich und rein gewachsen. Das Thier war also gestorben an einer durch Botryococcen verursachten Septikämie.

N°. 15. Einem schwächlichen, aber nahezu erwachsenen Kaninchen wurde am 2ten August 2 ccm der beim vorigen Versuch verwendeten Kulturflüssigkeit in die hintere Ohrvene des rechten Ohres gespritzt. Die Impfung geschah morgens, etwa um 11 Uhr.

Mittags 3 Uhr war das Thier gestorben. Die Sektion wurde sofort vorgenommen. Mit Ausnahme der Coccidien in der Leber

wurden in den verschiedenen Organen keine *nennenswerthen* Abweichungen gefunden. Sie waren blutreich, und die Milz war stark geschwollen.

In einem Deckglaspräparat des Blutes fanden sich Botryococcen.

Glycerinagarkulturen aus Leber, Milz und Blut des rechten Herzens waren am 7ten August rein gewachsen als schöne gelbe Kulturen. Im Gelatinestich kontrollirt zeigten sie am 10ten August schöne Kelchbildung.

Ursache des Todes also Septikämie durch Botryococcus.

N°. 16. Ein drittes, junges Kaninchen erhielt am 2ten August 3 ccm der für N°. 14 und 15 verwendeten Flüssigkeit intraperitoneal. Am folgenden Tag war das Thier ziemlich munter; in den nächsten Tagen keine Krankheitssymptome. Das Thier ist weiter gesund geblieben. Die Möglichkeit dass die eingespritzte Flüssigkeit in den Darm gekommen ist, ist nicht ausgeschlossen.

N°. 17. Ein starkes, erwachsenes, grosses Kaninchen erhielt am 2ten August 2 ccm von derselben Flüssigkeit in die hintere Ohrvene des rechten Ohres injicirt. Die Injection geschah um 3 Uhr des Nachmittags. Am folgenden Morgen sass das Thier traurig und unbeweglich, war sehr krank. Um 10.20 Uhr des Morgens erfolgte der Tod. Die Sektion fand sofort statt. Hautgefässe stark gefüllt. Im Abdomen wenig seröse Flüssigkeit; Peritoneum stark injicirt; auch die Gefässe des Netzes. Milz gross und blutreich, weich. Leber mürbe, blutreich. Nieren blutreich. Magen und Därme gefüllt, normal. Pleura costalis stark injicirt. Lungen anämisch. Das linke Herz leer, das rechte mit flüssigem Blute gefüllt. Herzmuskel normal. Kulturen aus Milz, Leber, dem rechten Herzen und Niere. Die Kultur des Herzblutes blieb steril; die anderen waren am 10ten August rein gewachsen. Die Gelatinekultur aus der Niere war eine schöne Kelchcultur.

Ursache des Todes Botryococcen-Bakteriämie und Toxämie.

N°. 18. Ein etwa 6 Wochen alter junger Hund erhielt am 2ten August 2 ccm der Kulturflüssigkeit subcutan am Brustbein. Am folgenden Tage eine heisse, ödematöse, thalergrosse Anschwellung, welche sehr schmerzhaft war. Am 4ten August ist dieselbe schärfer umschrieben, fluctuirt in der Mitte. Um 3 Uhr

des Nachmittags wurde der Abscess geöffnet; er enthielt schmutzig gelben, etwas blutigen Eiter, wie das bei Hunden öfters der Fall ist. Die mit dem Eiter angelegten Kulturen zeigten sich als schöne Botryomyces-Kulturen. In dem Eiter keine Botryomycesrasen. Die Abscesswunde heilte regelmässig.

N°. 19. Ein junger Hund in dem selben Alter empfing an dem gleichen Tage 3 ccm der Kulturflüssigkeit ins Abdomen. Am nächsten Tag war das Thier etwas weniger munter, war jedoch bald wieder gesund und hat weiter keine abnormen Erscheinungen gezeigt.

N°. 20. Ein junges, halberwachsenes Meerschweinchen erhielt am 2ten August ½ ccm Kulturflüssigkeit subcutan in der Nähe des Brustbeines. Am nächsten Tag geringe Anschwellung der Impfstelle, welche bald verschwand. Am 5ten August war die Haut an der Impfstelle hart wie Pergament. Am 9ten August wieder eine ovale, fluctuirende Anschwellung von länglicher Gestalt, welche am 10ten August mit dem Messer eröffnet wurde. Es war ein Abscess mit weissgelbem Eiter, ohne Botryomycesrasen. Es wurden 2 Glycerinagarkulturen und 2 Gelatinestichkulturen angelegt, welche am 14ten August schön in reinem Zustand gewachsen waren und wobei die Gelatinekulturen schöne Kelche zeigten.

Die gemachte Wunde und der Abscess heilten schnell und regelmässig.

N°. 21. Ein etwas grösseres, aber noch nicht ganz ausgewachsenes Meerschweinchen erhielt 3 ccm Kulturflüssigkeit ins Peritoneum. Am folgenden Tag war das Thier sehr krank und war um 3 Uhr des Nachmittags gestorben. Die Impfung hatte am 2ten August um 12½ Uhr statt gefunden; der Tod war also innerhalb 27 Stunden eingetreten. Das subcutane Bindegewebe war, zumal in der Nähe der Impfstelle, serös-gelatinös infiltrirt. Bauchhöhle mit blutiger, trüber Flüssigkeit. Eitrige Infiltration des grossen und kleinen Netzes. Peritoneum heftig entzündet. Milz gross, Leber normal wie die Nieren. Lungen blutreich, Herz normal, rechts mit geronnenem und flüssigem, links mit wenig flüssigem Blut. Kulturen aus Netz, Flüssigkeit aus der Bauchhöhle, Milz, Leber und dem rechten Herzen waren am 10ten August

alle rein gewachsen. Todesursache also: septische Peritonitis durch Botryococcen verursacht.

N°. 22. Von den Glycerinagarkulturen vom 30ten Juli, wovon einzelne zu den am 2ten August vorgenommenen Impfungen verwendet waren (sieh S. 33), wurden einige der restirenden am 4ten August zu neuen Versuchen mit sterilisirtem destillirtem Wasser geschüttelt. Von dieser Kulturflüssigkeit wurde einem Kaninchen 2 ccm an der Innenfläche des linken Hinterschenkels eingespritzt. Dieser Versuch diente zur Kontrolle von Versuch N°. 14. Die Injektion geschah um 4 Uhr Nachmittags. Am nächsten Tag war das Thier traurig, frass nicht und zeigte keine Schwellung der Impfstelle. Es wurde immer kranker und war um 3 Uhr nachmittags gestorben, also innerhalb 24 Stunden. Die Sektion fand sofort statt. Haemorrhagische Entzündung des subcutanen Gewebes an der Impfstelle; das Unterhaut-Bindegewebe der ganzen unteren Bauchfläche, im Zusammenhange mit der Infiltration an der Impfstelle, oedematös, während die Hautgefässe zur Stelle stark injicirt waren; keine Flüssigkeit in der Bauchhöhle. Peritoneum parietale stark injicirt. Blase mit trübem Harn. Die Bauchgefässe stark gefüllt, Milz ziemlich klein; Leber nichts Abnormes; Nieren idem. Magen und Därme nichts Abweichendes. Brustfell stark geröthet. Lungen sehr blutreich. Herz normal, rechts mit Blutgerinnseln, links leer.

Kulturen wurden angelegt aus Milz, Leber, der rechten Herzkammer und dem blutig infiltrirten Gewebe der Impfstelle. Nur die Kultur von der Impfstelle war am 11ten August rein gewachsen; es war dies eine sehr schöne Kelchkultur. Die drei anderen Röhrchen waren *steril* geblieben. Die Ursache des Todes ist also hier zu suchen in einer Intoxication durch die an der Impfstelle von den Botryococcen erzeugten Toxinen.

N°. 23. Auch am 4ten August, zur selben Zeit wie das Kaninchen, wurde ein Meerschweinchen mit $1^1/_2$ ccm der Kulturflüssigkeit subcutan am rechten Hinterschenkel geimpft. Am folgenden Tag grosse, schmerzhafte Anschwellung an der Impfstelle, welche in den nächsten Tagen stationär blieb, am 9ten August abnahm, am 11ten August nussgross, scharf umschrieben war, in

den folgenden Tagen immer kleiner wurde und am 20ten August verschwunden war. Die Muskeln an der Hinterfläche des Schenkels blieben aber rechts mehr verdickt als links. Am 3ten September war der rechte Hinterschenkel ganz normal.

Die Impfung hatte in diesem Falle also eine vorübergehende Entzündung im subcutanen Gewebe der Impfstelle hervorgerufen.

N°. 24. Glycerinagarkultur vom 30ten Juli wird am 7ten August mit sterilem destillirtem Wasser geschüttelt und von der erhalhaltenen Flüssigkeit einem erwachsenen Kaninchen 2 ccm an der Innenfläche des rechten Hinterschenkels eingespritzt. In den folgenden Tagen bloss Röthung der Impfstelle zu sehen. Am 10ten August war das Thier etwas unruhig, die Röthung war verschwunden, jedoch der Hinterschenkel in den hinteren Theilen diffus angeschwollen. Am 11ten August war diese Anschwellung hart und noch diffus, am 12ten August war sie genauer umschrieben. Am 13ten August ging die Schwellung zurück, am 16ten August war ein erbsengrosses Knötchen übrig geblieben; dieses verkleinerte in den nächsten Tagen sich immer mehr um am 19ten August wieder etwas an Umfang zuzunehmen. Vom 28ten August an fand wieder Verkleinerung statt. Am 31ten August war ein kleines, hartes, erbsenförmiges Knötchen in den Muskeln an der Hinterfläche des Schenkels vorhanden und dieses blieb bestehen bis zum 10ten September; von jenem Tage an wurde die Infiltration wieder diffuser. Erst am 15ten October war die Impfreaktion ganz und gar verschwunden.

Die Impfung hatte also dasselbe Resultat ergeben wie bei dem Meerschweinchen des vorigen Versuchs, mit dem Unterschiede, dass die Folgen der Impfung weit länger gedauert haben. Uebrigens ist das Resultat dieses Versuches dem von N°. 8 ähnlich, in welchen es vielleicht auch zur Resorption gekommen wäre, wenn nicht das Kaninchen, behufs der Untersuchung der aufgetretenen Alterationen, getödtet worden wäre.

N°. 26. Von der im vorigen Versuche verwendeten Kulturflüssigkeit erhielt am 7ten August ein zweites Kaninchen, nachmittags 4¾ Uhr, 4 ccm ins Abdomen. In den nächsten Tagen blieb das Thier munter. Nachher magerte es ab, der Appetit

blieb gut. Am 11ten August war das Thier sehr schwach und am folgenden Morgen wurde es todt im Käfig gefunden. Die Obduktion ergab eitrige Peritonitis mit vorwiegend eitriger Infiltration des grossen Netzes. Die Kulturen aus dem Netze waren schöne Botryomyceskelchkulturen. Die Kulturen aus den Organen und aus dem Blut blieben steril. Das Thier war also an durch Botryococcen verursachte eitrige Peritonitis in 5 Tagen zu Grunde gegangen. Dieser Versuch wurde unternommen zur Kontrolle von N°. 16.

N°. 26. Der Hund, welcher am 13ten Juni ohne Resultat geimpft worden war, wurde am 10ten August zu einem neuen Versuch verwendet. Eine der Botryomyceskulturen auf Glycerinagar, am 4ten August gezüchtet aus dem Abscess des Hundes von Versuch N°. 18, und also sechs Tage alt, wurde mit sterilem Wasser geschüttelt, und von dieser Flüssigkeit dem Hunde 2 ccm an der Innenfläche des rechten Hinterschenkels injicirt. Am nächsten Tag Schwellung an der Impfstelle, welche weiter etwas zunahm, am 13ten August abnahm, am 14ten August sich wieder etwas vergrösserte, um danach allmählich zu verschwinden. Am 28ten August war die Impfstelle normal. Es hatte also eine vorübergehende Entzündung statt gefunden.

N°. 27. Ein junger Hund, etwa 7 Wochen alt, Schwester der in N°. 18 und 19 verwendeten Hunde, empfing am 10ten August 5 ccm derselben Kulturflüssigkeit ins Abdomen. Das Thier blieb munter, hatte jedoch am 13ten August eine Anschwellung an der Einspritzungsstelle, welche sich teigig anfühlte. Diese Schwellung fing am 16ten August an sich zu vermindern und war am 20ten verschwunden. Das Thier ist weiter gesund geblieben. Offenbar ist bei der Injektion ein wenig Kulturflüssigkeit in das subcutane Gewebe gelangt und hat die entzündliche Anschwellung verursacht.

Wenn ich die Resultate der mit Botryococcus gemachten Thierimpfungen in chronologischer Ordnung mittheilen wollte, müsste ich jetzt die Inokulation eines *Pferdes* erwähnen. Es kommt mir aber zweckmässiger vor meine mit Pferden angestellten Versuche in einem besondern Abschnitt zu referiren. Ich werde also erst die gewöhnlichen Laboratoriumsversuchsthiere abhandeln.

RABE macht in seiner citirten Arbeit die Mittheilung, dass „Mäuse" gegen den Micrococcus der entzündlichen Bindegewebswucherung immun zu sein scheinen." Auch KITT hat bei der Impfung von Mäusen keinen Erfolg gehabt (siehe S. 9). Es war also von grossem Interesse näher zu untersuchen in wie fern auch in meinem Falle die Impfversuche auf Mäuse mit den Resultaten der beiden genannten Forscher übereinstimmen.

Am 12ten September impfte ich die einen Monat alten Gelatinekulturen aus dem Netze des Kaninchens von Versuch N°. 25, welches am 12ten August gestorben war, auf frisches Glycerinagar über. Am 14ten September waren diese Kulturen bei 37° C. reichlich gewachsen.

N°. 28 und 29. Am 14ten September erhielten 2 starke graue Mäuse subcutan unter die Rückenhaut je 1 ccm Kulturflüssigkeit, welche durch Schütteln einer der soeben erwähnten Glycerinagarkultur mit sterilem destillirtem Wasser zubereitet worden war.

N°. 28 war während der Nacht von 14 bis 15 September gestorben. N°. 29 starb am 15ten September morgens 9 Uhr. Der Tod war also in beiden Fällen innerhalb 24 Stunden eingetreten.

Sektion von N°. 28. An der Impfstelle wenig zu sehen. In der Bauchhöhle etwas seröse Flüssigkeit, wie auch in der Brusthöhle. Baucheingeweide normal. Lungen und Herz sehr blutreich.

Gelatinestichkulturen wurden angelegt von der Impfstelle, aus Leber, Milz, der linken Niere, aus Flüssigkeit in der Brusthöhle und aus dem Herzen. Diese Kulturen sind alle rein gewachsen und waren schöne Botryococcenkulturen.

Section von N°. 29. Blutige Infiltration an der Impfstelle. Bauchhöhle und Eingeweide normal, jedoch das Netz eitrig infiltrirt. Keine Flüssigkeit in Brust- oder Bauchhöhle. Die Brustorgane sehr blutreich.

Gelatinestichkulturen aus Impfstelle, Netz, Leber, Milz, der linken Niere und dem Herzen wuchsen sehr bald rein als echte Botryomyceskulturen.

Die beiden Mäuse waren also gestorben an einer durch Botryomyces verursachten Septikämie. Also ein ganz anderes Resultat als das von RABE und KITT erwähnte.

N°. 30 und 31. Eine der am 12ten September angelegten Glycerinagarkulturen des Kaninchens von Versuch N°. 25 wurde am 17ten September mit sterilem Wasser geschüttelt und von der erhaltenen Flüssigkeit empfingen zwei *weisse Ratten* je 3 ccm subcutan am Rücken. Die beide Thieren zeigten nur eine vorübergehende Anschwellung der Impfstelle, haben weiter keine krankhaften Symptome gehabt.

Weisse Ratten scheinen also immun zu sein.

Die Virulenz bei Mäusen habe ich später noch in anderer Weise und mit etwas abweichendem Resultat bestätigt gefunden.

Die ursprünglichen Botryomyceskulturen waren am 11ten April 1897 aus Botryomyces-Eiter des auf S. 21 erwähnten Pferdes in Kelchform schön gewachsen. Diese Kulturen wurden am 19ten August 1898, also nach 16 Monaten in Gelatine übergeimpft und zeigten sich noch sehr gut wachsthumsfähig. Letztere Kulturen wurden am 14ten September 1898 auf gewöhnliches Agar gebracht. Am folgenden Tag wurde diese Kultur mit Wasser geschüttelt und zu den Versuchen verwendet.

N°. 22 und 33. Von der Kulturflüssigkeit erhielt ein graue Maus $1^1/_2$ ccm und eine andere 2 ccm subcutan am Rücken. Die Quantitäten wurden ziemlich gross genommen, weil ich fürchtete, dass die Virulenz verschwunden sein würde. Die Impfungen fanden um 4 Uhr nachmittags statt.

Nach der Impfung waren die Thierchen traurig, am 16ten jedoch wieder munter. Am 19ten war N°. 33 traurig, sass mit halbgeschlossenen Augen. N°. 32 war gesund. N°. 33 ist am 20sten September zwischen 10 und 11 Uhr gestorben, also innerhalb fünf Tagen N°. 32 war an jenem Tage auch merkbar krank.

Sektion von N°. 33. Subcutan an der Impfstelle eine käsige Eitermasse, worin keine Botryomycesrasen. Keine Flüssigkeit in der Bauchhöhle. Baucheingeweide blutreich. In der Brusthöhle keine Flüssigkeit, es bestand jedoch fibrinöse Pleuritis und Pericarditis. Lungen normal. Kulturen werden angelegt aus der Eitermasse an der Impfstelle, aus Niere, Milz, Leber und Herz. Diese sind alle rein gewachsen mit Ausnahme von denen der Niere.

Bei Maus N°. 32 trat am 21sten September wieder eine kleine

Besserung ein und sie schien sich in den folgenden Tagen zu erholen. Am 24sten war sie aber wieder krank und starb abends 8 Uhr, also etwa 9 Tage nach der Impfung. Die Sektion fand am folgenden Tage statt. Käsige Eitermasse an der Impfstelle. Weiter keine wichtigen Abweichungen. Die sämmtlichen Organe waren blutreich mit Ausnahme der Lungen. Kulturen von der Impfstelle, aus Niere, Leber, Milz und der rechten Herzhälfte haben alle Botryococcen gezeigt, mit Ausnahme von denen der Leber.

Diese letzten Versuche auf Mäuse haben merkwürdige Dinge ans Licht gebracht.

1. *dass Botryomyceskulturen sehr lange, wenigstens 16 Monate entwicklungsfähig bleiben;*

2. *dass sie in dieser Zeit auch ihre Virulenz nicht eingebüsst haben;*

3. *dass sie in dieser Virulenz wohl etwas geschwächt sind, insofern die ziemlich jungen Botryococcenkulturen, welche den Körper von Meerschweinchen und Kaninchen passiert haben bei Mäusen bei subcutaner Impfung innerhalb 24 Stunden Septikämie erzeugen, ohne Eiterung an der Impfstelle (N°. 28 und 29), während die ursprünglichen, über ein Jahr alten Botryomyceskulturen bei Mäusen in fünf bis neun Tagen Septikämie entstehen lassen, nachdem an der Impfstelle zuerst ziemlich starke Eiterung aufgetreten ist* (N°. 32 und 33), und auch die bei letzteren Impfungen verwendete Kulturflüssigkeit weit grösser war.

Die Resultate von allen mit Botryococcen angestellten, bis jetzt erwähnten Impfversuche finden sich in der folgenden Tabelle zusammengefast. Daraus ist ersichtlich das Impfungen angestellt wurden bei *9 Meerschweinchen; 6* wurden *subcutan* geimpft, wovon *5* reagirten durch *Abscesse* an der *Impfstelle* und *eins* durch *vorübergehende Entzündung. Intraperitoneal* wurden *3* junge Meerschweinchen geimpft; zwei starben an *eitrig-septischer Peritonitis*, das dritte war vorübergehend krank, zeigte aber einen *Abscess* an der Impfstelle.

Bei *Kaninchen* wurden 11 Impfungen gemacht, davon 5 subcutan, 4 intraperitoneal und 2 intravenös. Von den *subcutan*

Versuchs-nummer.	Versuchsthier.	Impfungs-modus.	Impfungsresultat.
1.	Meerschweinchen	subcutan	Abscess an der Impfstelle.
3.	„	„	„ „ „ „
5.	Hund	„	Ausser Schmerz an der Impfstelle keine krankhaften Symptome.
6.	Meerschweinchen	„	Abscess an der Impfstelle.
7.	Junges Meerschweinchen	intraperitoneal	Tod an eitrig-septischer Peritonitis in 48 Stunden.
8.	Kaninchen	subcutan	Abscesse an der Impfstelle, eitrige Gonitis.
9.	Junges Kaninchen	intraperitoneal	Tod an eitriger Peritonitis in 6 Tagen.
10.	Meerschweinchen	subcutan	Abscess an der Impfstelle.
11.	Junges Meerschweinchen	intraperitoneal	Vorübergehende Peritonitis. Hautabscess an der Impfstelle.
12.	Kaninchen	subcutan	Abscesse und eitrige Gonitis an der Impstelle.
13.	Junges Kaninchen	intraperitoneal	Tod an eitrigseptischer Peritonitis in 24 Stunden.
14.	„ „	subcutan	Tod an Septikämie in 2 Tagen.
15.	Kaninchen	intravenös	Tod an Septikämie in 4 Stunden.
16.	Junges Kaninchen	intraperitoneal	Keine krankhaften Symptome gezeigt.
17.	Kaninchen	intravenös	Tod an Septikämie in 20 Stunden.
18.	Junger Hund	subcutan	Abscess an der Impfstelle.
19.	„ „	intraperitoneal	Vorübergehend krank.
20.	Junges Meerschweinchen	subcutan	Abscess an der Impfstelle.
21.	„ „	intraperitoneal	Tod an eitrig-septischer Peritonitis in 27 Stunden.
22.	Kaninchen	subcutan	Tod an Septikämie in 23 Stunden.
23.	Meerschweinchen	„	Vorübergehende Entzündung an der Impfstelle.
24.	Kaninchen	„	„ „ „ „ „
25.	„	intraperitoneal	Tod an eitriger Peritonitis in 5 Tagen.
26.	Hund	subcutan	Vorübergehende Entzündung an der Impfstelle.
27.	Junger Hund	intraperitoneal	„ „ der Haut und Unterhaut an der Impfstelle, sonst keine Symptome.
28.	Maus	subcutan	Tod an Septikämie innerhalb 24 Stunden.
29.	„	„	„ „ „ „ „ „
30.	Weisse Ratte	„	Vorübergehende Entzündung an der Impfstelle.
31.	„ „	„	„ „ „ „ „
32.	Maus	„	Tod in 9 Tagen. Eiterung an der Impfstelle, nachher Septikämie.
33.	„	„	Tod in 5 Tagen. Eiterung an der Impfstelle, nachher Septikämie.

geimpften reagirten 2 durch *eitrige* Processe an der Impfstelle, 2 starben an *Septikämie* und eins zeigte *vorübergehende* Entzündung an der Impfstelle. Von den *intraperitoneal* geimpften starb eins an *eitrig-septischer Peritonites*, zwei an *eitriger Peritonitis*, während das vierte *keine* Krankheitssymptome zeigte. Die *intravenös* geimpften starben beide an *Septikämie*.

Bei *Hunden* wurden fünf Impfungen vorgenommen, drei subcutan und zwei intraperitoneal. Von den *subcutan* inokulirten zeigte einer *keine* Symptome, einer einen *Abscess* an der Impfstelle und der dritte eine *vorübergehende Entzündung* an der Impfstelle; von den *intraperitoneal* geimpften wurde der eine *vorübergehend* krank, der andere zeigte *vorübergehende Entzündung* des Unterhaut-Bindegewebes an der Impfstelle.

Vier *Mäuse* wurden *subcutan* geimpft; zwei starben an *Septikämie*, zwei an *Septikämie* nach vorhergehender *Eiterung* an der Impfstelle.

Zwei *subcutan* geimpfte weisse Ratten zeigten nur *vorübergehende Entzündung* an der Impfstelle.

Die Versuche haben also gelehrt, dass der von mir aus Botryomykomen des Pferdes gezüchtete Botryococcus pathogen ist für Meerschweinchen, Kaninchen, Hunde, Mäuse und weisse Ratten.

Subcutan erzeugt er bei Meerschweinchen gewöhnlich Abscesse an der Impfstelle (5 Fälle), selten vorübergehende Entzündung (1 Fall); bei Kaninchen wenig progrediente Eiterungsprocesse an der Impfstelle (2 Fälle), Septikämie (2 Fälle), oder vorübergehende Entzündung (1 Fall). Bei Hunden entweder einen Abscess an der Impfstelle (1 Fall), oder vorübergehende Entzündung an derselben (1 Fall), oder keine krankhaften Symptome (1 Fall). Bei Mäusen Septikämie (2 Falle) oder Septikämie nach vorhergehender Eiterung an der Impfstelle (2 Fälle). Bei weissen Ratten vorübergehende Entzündung an der Impfstelle (2 Fälle).

Intraperitoneal tödtet er Meerschweinchen an Septikämie (2 Fälle) oder sie werden vorübergehend krank (1 Fall). Bei Kaninchen erfolgt der Tod an eitrig-septischer oder an eitriger Peritonitis (3 Fälle), oder das Thier bleibt gesund (1 Fall). Hunde werden vorübergehend krank (1 Fall) oder bleiben gesund (1 Fall).

Intravenös verursacht er bei Kaninchen Septikämie (2 Fälle).

Werden diese Resultate mit den auf S. 4 mitgetheilten von RABE verglichen, so bemerkt man erhebliche Unterschiede. Nach RABE tödtet der Micrococcus botryogenes Meerschweinchen unter den Erscheinungen der Septikämie. RABE erwähnt zwei Versuche bei Meerschweinchen, welche beide subcutan geimpft wurden. Das eine starb an Septikämie, das andere zeigte nur geringe vorübergehende Entzündung an der Impfstelle. Die Zahl der von RABE mitgetheilten Versuche ist zwar gering, aber es fällt doch der Unterschied mit meinen Versuchen auf, in welchen bei subcutaner Impfung von Meerschweinchen namentlich Abscesse entstanden.

Mit Ziegen und Lämmern habe ich, in Gegensatz zu RABE nicht experimentirt. Aber seine Versuche mit Mäusen, welche er immun nennt, sind sehr verschieden von den meinigen, da ich in 4 Fällen positive Resultate erhielt.

RABE sagt weiter in seiner Abhandlung (loc. cit. S. 151), dass er seinen *orientirenden* Versuchen, einige andere Impfungen an Schafen, Kaninchen, Meerschweinchen und Mäusen habe folgen lassen. Er theilt betreffs dieser Versuche nichts Näheres mit; dies ist in Bezug auf die Resultate bei Kaninchen sehr zu bedauern. Was die anderen Versuchsthiere anbelangt glaube ich annehmen zu können, dass die weiteren Versuche von RABE seine zuerst mitgetheilten bestätigt haben.

Mehr in Uebereinstimmung mit meinen Versuchen sind die von KITT mitgetheilten Ergebnisse, obwohl sie wenig präcisirt sind (sieh S. 9). Er erhielt bei cutaner oder subcutaner Impfung von Mäusen, Meerschweinchen, Kaninchen, das eine Mal nur spärliche locale Eiterung (bei Kaninchen die Bildung kleiner käsiger Herde), das andere Mal überhaupt keinen Effekt (Mäuse) ein ander Mal wieder eine Intoxication, wie auch RABE bei Meerschweinchen theils Septikämie, theils gesund bleiben beobachtete. KITT sagt weiter dass er noch zu wenig kleine Versuchsthiere geprüft habe, um sich Schlüsse auf die Verwandschaft oder Differenz von Botryococcus und Staphylococcus pyogenes gestatten zu können. Aus dem Mitgetheilten darf wohl der

Schluss gezogen werden, dass KITT, wenigstens bei Kaninchen, die pyogenen Eigenschaften des Botryococcus sicher beobachtet hat, und dass, wie ich früher schon sagte (S. 39), KITT bei Mäusen keine Wirkung seiner Impfungen sah.

Was aus meinen Versuchen durchaus ersichtlich ist und das hat in Bezug auf die Meinungen von KITT und HELL, dass der Botryococcus ein Eiterstaphylococcus sei, grosses Interesse, das ist *die Tendenz des Botryomyces zur Eiterung bei Meerschweinchen, Kaninchen und selbst bei Mäusen und Hunden. Diese Eigenschaft geht nicht nur hervor aus den subcutanen Impfungen, sondern auch aus den intraperitonealen, bei denen die pyogene Wirkung in vielen Fällen nicht zu verkennen war.*

III. Versuche an Pferden.

Wie aus dem vorigen Abschnitt hervorgeht habe ich alle dort erwähnten Thierimpfungen mit dem Botryococcus, welchen ich aus dem Botryomyces-Eiter eines Pferdes gezüchtet habe angestellt. Dass der isolirte Micrococcus wirklich der Micrococcus botryogenes von RABE war, wurde daraus abgeleitet, das der Coccus aus den Botryomycesrasen selbst entnommen und rein isolirt worden war. Ueberdies zeigte dieser Microorganismus in der Gelatinestichkultur das Wachsthum, welches RABE als characteristisch für den Botryococcus beschrieben hat.

Dieser Botryococcus wurde immer wieder in reinem Zustande aus den geimpften Versuchsthieren gezüchtet. Eine Verunreinigung der verwendeten Botryococcen hat bei den Versuchen *niemals* statt gefunden. Von Anfang bis zu Ende wurde also experimentirt mit dem ursprünglichen Botryococcus, entweder nur auf Nährmedien übergeimpft, oder auch im Körper von Versuchsthieren weiter gezüchtet. Die aus dem Pferde isolirten Microorganismen und die von den Versuchsthieren herkömmlichen waren durchaus dieselben.

Um jedoch mit Entschiedenheit sagen zu können dass der isolirte Coccus wirklich der Botryococcus sei, war es nothwendig als Impfungsresultat *Eiter, in dem wirkliche Botryomycesrasen vorhanden waren,* zu bekommen. Dieses war bei den verschiedenen Versuchsthieren nicht gelungen. Der dort erzeugte Eiter enthielt niemals *Botryomycestrauben.*

Es mussten also Versuche an Pferden angestellt werden. Dies war jedoch noch aus anderen Gründen erwünscht. Wie später

aus den von mir zu beschreibenden Kulturmerkmalen des Botryomyces hervorgeht, ist auch von mir die Uebereinstimmung mit *Staphylococcus pyogenes* sehr frappant befunden worden. Ich hatte mich daher entschlossen auch Impfungen mit Staphylococcus pyogenes aureus und albus an Pferden anzustellen, um zu sehen ob in dieser Weise Botryomykome zum Vorschein gerufen werden könnten. Zu diesem Zweck war es aber sehr wünschenwerth zuvor die Wirkung des Botryococcus bei Pferden zu prüfen, um so mehr als die bei Pferden mit Botryomyces angestellten Versuche bis heute nur sehr wenige sind, was wohl in dem hohen Preise dieser Versuchsthiere seine Ursache hat.

Solche Impfungen auf Pferde sind zuerst angestellt worden von RABE, und er hat damit den eclatanten Nachweis der Specificität des von ihm isolirten Micrococcus geliefert. Namentlich der zweite von RABE gemachte Versuch (loc. cit. S. 151) hat in dieser Hinsicht grossen Werth, insofern dabei keine Wunde gemacht wurde, von der aus zufälliges Eindringen von Botryomyces zu befürchten war. Bei seiner ersten Impfung hatte RABE nicht die Pravazspritze, sondern das Messer zur Impfung verwendet, und eine Secundär-Infektion ist im letzten Felle möglich gewesen.

Auch KITT hat eine solche Impfung gemacht und ich habe diese absichtlich so ausführlich referirt (siehe S. 10 ff.), weil das Resultat mir nicht so praegnant vorkommt, wie das von RABE. KITT impfte an der Halsfläche eines Pferdes; es entstand ein Abscess, welcher perforirte. In dem Eiter befanden sich keine Kugelrasen. Die Hautdecke über der Abcesshöhle mortificirte, fiel ab, eine granulirende, rothe Fläche zurücklassend. Diese Fläche vernarbte unter Schorfbildung. An beiden Enden und auch über der Narbe bildeten sich später Knoten, welche sich als Botryomykome entpuppten.

Nun halte ich es auch, mit KITT, für wahrscheinlich, dass diese Botryomykome wirklich durch die eingespritzten Botryococcen erzeugt worden sind; sicher ist das aber nicht. Wenn wir annehmen dass die Botryomykome entstehen durch Hautverletzungen, in welche die Botryococcen später eindringen, dann

ist in dem KITT'schen Falle auch zu vermuten, dass zufällig Botryococcen später in die nach der Oeffnung des Abscesses entstandene Wunde eingedrungen sind und also eine secundäre Infektion zu Stande gekommen ist.

HELL hat, wie früher erwähnt (S. 17), seinen diesbezüglichen Versuch nicht beendigt.

PONCET und DOR (loc. cit.) haben am 15ten Juli 1897 Kulturen der vom Menschen herkömmlichen Botryococcen durch GUINARD cutan und subcutan an dem Euter eines Esels einspritzen lassen. Während zwei oder drei Tage nach der Injektion zeigte das Thier ein wenig lokales Oedem, welches alsbald verschwand. Die Temperatur ist um einige Zehntelgrad gestiegen, doch sehr bald war jede Abnormität verschwunden.

Gegen den 6ten August, also etwa 20 Tage nach der Inokulation entstand eine Induration der Derma, welche ulcerirte, und daraus ist, etwa wie ein Bruch, eine fungöse Granulation hervorgegangen, welche sich mit schwarzen Schörfen bedeckte und am 14ten August gestielt war. Der Tumor war nussgross, und der Stiel, welcher fibrös und fest war, hatte die Grösse einer Gänsefeder. Um den Stiel herum war die Haut verdünnt und ulcerirt.

Die Autoren haben einige Tage gewartet, in der Hoffnung dass der Tumor sich vergrösseren würde; in 8 Tagen jedoch war er verschwunden und es war nur ein ulcerirendes Pünktchen an der Stelle des Stieles zurückgeblieben. Wahrscheinlich hatte das Thier sich gerieben und war die Geschwulst dadurch abgefallen.

Obwohl es nun wohl wahrscheinlich ist, das der entstandene Tumor ein Botryomykom war, ist dies doch gar nicht bewiesen und muss man sich mit der Wahrscheinlichkeit zufrieden stellen.

Die *einwandsfreie* Uebertragung des Botryomyces auf Pferde mittelst Botryococcenkulturen hat also nur einmal stattgefunden. In dieser Hinsicht war ein neuer Versuch nicht überflüssig.

Zu jenem Versuche bestimmte ich einen etwa 14 Jahre alten, braunen, gut genährten, starken Wallach, welcher ein wenig

paretisch im Kreuz war und überhaupt an einem der Hinterbeine lahmte.

Ich beabsichtigte zwei Impfungen auszuführen, eine mit den weiter gezüchteten ursprünglichen Botryomyceskulturen, die andere mit einer aus einem Versuchsthiere erhaltenen Botryococcuskultur.

Die ursprünglichen Kulturen waren am 11ten April 1897 in Gelatinestichkultur schön kelchförmig gewachsen und waren aus den Botryomycesrasen in den Gelatineplatten entnommen. Dies war also eine 2te Generation. Am 28sten Juli 1897 war eine der genannten Gelatinestichkulturen auf Glycerinagar übergeimpft worden; das war die 3te Generation, also nach etwa 3 Monaten angelegt. Diese letzte Kultur wurde am 10ten August wieder auf Glycerinagar übergeimpft; das war also die 4te Generation, welche bei Bruttemperatur gezüchtet wurde und zur Impfung bestimmt war.

Ueberdies wurde eine der Kulturen auf Glycerinagar, am 10ten August dem Abscess des Meerschweinchens von Versuch N°. 20 entnommen, welche schön goldgelb gewachsen war, zu einem Versuch an dem Pferde bestimmt, welcher am 12ten August 1897 stattfand. Die Kultur des Meerschweinchens von Versuch N°. 20 war insofern gut gewählt als die Gelatinestichkulturen aus demselben Eiter am 14ten August sehr schöne, nach RABE typische Kelche zeigten.

Das Meerschweinchen selbst war am 2ten August geimpft worden mit einer Glycerinagarkultur vom 18ten Juli 1897 aus dem Abscess des Meerschweinchens von Versuch N°. 10 herrührend, und am 30sten Juli auf neues Glycerinagar übergeimpft. Dieses letzte Meerschweinchen war geimpft worden mit einer Bouillonkultur, am 25ten Juni von einer Gelatinekultur angefertigt, welche letztere wieder am 15ten Juni angelegt war und von einer Glycerinagarkultur stammte, welche am 8ten Juni aus dem künstlich geöffneten Abscess des Meerschweinchens von Versuch N°. 3 gezüchtet war. Dieses Meerschweinchen war am 27ten Mai mit einer 4 Tage alten Bouillonkultur geimpft worden, welche aus einem der ursprünglichen Gelatinestichkul-

turen vom 11ten April herrührte. Die Generation der Glycerinagarkultur vom Meerschweinchen des Versuchs N°. 20, welche beim Pferde zur Impfung diente, hat also die folgenden Generationen durchlaufen.

Gelatineplatten mit Botryomycesrasen, 5 April 1897, 1ste Generation.

Gelatinestichkulturen, 11 April 1897,	2te	Generation.
Bouillonkultur, 23 Mai 1897,	3te	„
Meerschweinchenkörper N°. 3, 27 Mai 1897,	4te	„
Glycerinagarkultur, 8 Juni 1897,	5te	„
Gelatinekultur, 15 Juni 1897,	6te	„
Bouillonkultur, 25 Juni 1897,	7te	„
Meerschweinchenkörper N°. 10, 4 Juli 1897,	8te	„
Glycerinagarkultur 18 Juli 1897,	9te	„
„ 30 Juli 1897,	10te	„
Meerschweinchenkörper N°. 20, 2 August 1897,	11te	„
Glycerinagarkultur, 10 August 1897,	12te	„

Die beiden zur Verwendung gelangten Botryomyceskulturen auf Agar waren also am 12ten August 2 Tage alt. Die erste war eine nicht durch den Körper von Versuchsthieren gegangene Kultur 4ter Generation, die andere eine dreimal aus dem Körper von Meerschweinchen kultivirte 12te Generation. Die an dem Pferde angestellten Versuche bezeichne ich als N°. 34 und N°. 35.

N°. 34. Am 12ten August 1897 erhielt das erwähnte Versuchspferd $3^1/_2$ ccm Kulturflüssigkeit, gewonnen durch Schütteln der ursprünglichen Botryomyceskultur 4ter Generation, mit sterilem destillirtem Wasser subcutan an der *linken* Halsfläche. Die Impfstelle war vorher gründlich desinficirt worden.

Zur selben Zeit erhielt das Pferd an der *rechten* Halsfläche $3^1/_2$ ccm aus der Meerschweinchenkultur zubereitete Kulturflüssigkeit; über das Resultat dieser Impfung, wird unter N°. 35 berichtet werden. Da jedoch nach den Impfungen einige allgemeine Symptome, welche hier erwähnt werden müssen, auftraten, müssen diese also als die Folgen von beiden Inokulationen betrachtet werden.

Die Impfungen fanden mittags um $2^1/_2$ Uhr statt. Die Körpertemperatur des Pferdes betrug 37.6° C.

Abends 7.10 Uhr war die Körpertemperatur auf 39° C. gestiegen. Puls und Athmung waren beschleunigt. An der Impfstelle links war eine 1 dm lange, $^1/_2$ dm breite teigige Anschwellung entstanden. Der Appetit war gut. Am folgenden Tag blieb das Thier ein wenig fieberhaft. Die Schwellung war etwas zurückgegangen, hatte abends jedoch wieder zugenommen, war heiss und schmerzhaft. Am 14ten nahm die Tumefaktion wieder etwas ab, war $^3/_4$ dm lang und breit, um am 15ten August sich wieder zu vergrössern. Sie blieb flach, warm, war ödematös. Am zu letzt genanntem Tage war sie 2 dm lang und 1 dm breit.

Am 16ten August waren die allgemeinen Symptome ganz und gar verschwunden. Das Pferd war gesund. An jenem Tag fing auch die Schwellung an abzunehmen. Schon am 17ten war sie bis zur Grösse eines Hühnereies zurückgegangen. Am 19ten August war sie fast ganz verschwunden. Am 20ten jedoch war wieder eine Vergrösserung bemerkbar; die Schwellung erstreckte sich strangförmig von dem Injektionspunkte gerade nach unten aus, etwa 1 dm lang. Das untere Ende des Stranges war knotenförmig. Am folgenden Tag war dieser Knoten verschwunden, und der Strang etwas kürzer, und in den nächsten Tagen wurde die Infiltration immer kleiner. Eine kleine strangförmige feste Anschwellung blieb aber zurück und am 17ten September, also mehr als einen Monat nach der Impfung war dieser Strang 3 cm lang.

Anfangs Oktober fing diese Infiltration an sich zu verändern. Sie wurde etwas grösser. Am 14ten Oktober war über dem strangförmigen Infiltrate ein erbsengrosses Knötchen zu fühlen; rechts von dem Strange ein ähnliches Knötchen. Am 22ten Oktober war eine grössere, etwa dreiästige harte Infiltration entstanden, welche am 29ten Oktober deutlich zugenommen hatte, etwa 4 cm lang und 2 cm breit. Von da an nahm das Wachsthum langsam zu, und am 12ten November war ein Knötchen von $4^1/_2$ cm Länge, 3 cm Breite und 1 cm Höhe unter der Haut entstanden, hart beim Anfühlen. In den nächsten Tagen

vergrösserte es sich nur wenig, wurde aber weicher. Am 17ten November war Fluctuation zu fühlen und es schien, dass Perforation Folgen würde. Da dies aber am 23sten November nicht geschehen war, *habe ich den Tumor an jenem Tage punktirt.* Es *entleerte* sich ziemlich viel gelbweisser, etwas blutiger Eiter, welcher in sterilen Röhrchen aufgefangen wurde. Schon mit unbewaffnetem Auge waren in dem Eiter kleine, weisse, sandkornartige Pünktchen zu sehen, wie das beim Botryomyceseiter der Fall ist. Bei der mikroskopischen Untersuchung waren in dem Eiter sehr viele *typische traubenförmige Botryomycesrasen zu finden,* so dass wir es hier unzweifelhaft mit Botryomycosis zu thun hatten.

Von diesem Eiter wurden einige Glycerinpräparate angefertigt. Am 25ten November habe ich die linke Halsfläche des Pferdes photographiren lassen. Ueberdies sind von einigen der mikroskopischen Eiterpräparate Photographieen angefertigt worden (sieh Taf. I, Fig. 1 und Taf. II, Fig. 2).

Am 4ten December 1897 habe ich ein mikroskopisches Eiterpräparat, in dem schöne Botryomycesrasen vorhanden waren und auch die Photogramme des Botryomykom an der linken Halsfläche und des Botryomyceseiters, vorgezeigt in der Versammlung der Section Utrecht des Niederländischen thierärtzlichen Vereins. Das Präparat war überzeugend.

Nach dem 23ten November habe ich das künstlich erzeugte Botryomykom noch während langer Zeit beobachtet. Die gemachte Oeffnung hatte sich nach einigen Tagen geschlossen um sich dann und wann wieder zu öffnen und der Tumor schien sich allmählich etwas zu vergrössern. Aus der Oeffnung entleerte sich zeitweise etwas Eiter. Am dritten Januar 1898 war das Botryomykom 5 cm lang, 3 cm breit. Am 26ten Januar hatte es wieder etwas zugenommen und bestand aus zwei kleinen Tumoren, von denen der obere offen war. Am 7ten Februar öffnete sich auch der untere. An jenem Tag liess sich aus dem oberen Theil wieder ziemlich viel Eiter herausdrücken, in dem sich sehr viele schöne Botryomycesrasen befanden. Die Entzündung breitete sich immer weiter aus. Am 25ten Februar war nach vorn wieder ein Knötchen entstanden.

Das Pferd wurde nun während einiger Zeit nicht beobachtet. Am 3ten Juni waren noch immer drei kleine Knötchen zu sehen; sie schienen aber nicht progredient, eiterten nicht, waren bedeutend kleiner und sehr flach geworden, so dass nur haarloose, etwas verdickte Hautstellen zu sehen waren. Das Thier wurde am 23ten Juni getödtet. Das betreffende Stück Haut wurde excidirt, zuerst in Formalin, nachher in Alcohol gehärtet, in Celloidin eingeschlossen und mittelst des Mikrotom geschnitten. Die mikroskopische Untersuchung ergab Folgendes:

Das kleinste Knötchen enthielt keine Botryomycesrasen. Haut und Unterhaut-Bindegewebe waren dort wohl ziemlich zum normalen Zustand zurück gekehrt, obwohl ein wenig neugebildetes Bindegewebe in der Cutis zugegen war. Das zweite Knötchen, oder besser der Rest davon, zeigte eine chronische produktive Entzündung der Cutis und Subcutis. Die Epidermis war ziemlich normal. In der Cutis waren Haarsäckchen, Schweiss- und Talgdrüsen verschwunden, während diese in dem naheliegenden normalen Theil sehr zahlreich vorhanden waren. Von der botryomykotischen Neubildung war nur neugebildetes Bindegewebe, welches an einzelnen Stellen noch zellig infiltrirt war, an anderen jedoch schön fibrillär erschien, übriggeblieben. *Botryomycesnester* waren nirgends zu sehen.

Die Untersuchung des dritten Knötchen ergab jedoch einen positiven Befund. Nach Anfertigung von zahlreichen Serienschnitten gelang es mir in zwei derselben einen Botryomycesrasen zu finden. Es fand sich in der Cutis ein aus Rundzellen bestehender Herd und in dessen Mitte eine Botryomyceskolonie. (Sieh Taf. III, Fig. 3 u. 4). Um den Herd war eine produktive Bindegewebswucherung vorhanden und auch hier waren Schweiss- und Talgdrüsen grösstentheils verschwunden. In anderen Schnitten war der rundzellige Herd ebenfalls zu sehen, es fand sich jedoch keine traubenförmige Kolonie darin. Der genannte Herd war überdies der einzige und der Process war evident zum Stillstand gekommen.

Meines Erachtens ist es kaum zweifelhaft, dass auch in dem dritten Knötchen die Botryomycesrasen alsbald verschwunden sein würden, dass es dort, wie in den beiden anderen auch zur

spontanen Heilung gekommen wäre, ein Resultat, welches für die Beurtheilung der botryomykotischen Processe von sehr grossem Interesse ist.

Durch das erwähnte Experiment ist also erwiesen, dass bei dem Versuchspferde, als Folge der Impfung mit einer Botryococcenkultur, 4ter Generation, der ursprünglichen im April 1897 aus Botryomyceseiter eines Pferdes angelegten Reinkultur, Botryomycosis an der Impfstelle aufgetreten war. Die Impfung geschah am 12ten August 1897, am 23ten November wurde das Impfbotryomykom diagnosticirt. Das positive Resultat hat also in diesem Falle 103 Tage auf sich warten lassen. Es muss jedoch hervorgeheben werden, dass schon anfangs Oktober eine Vergrösserung der von der Impfung zurückgebliebenen strangförmigen Infiltration bemerkbar war, *also innerhalb zwei Monaten.*

RABE impfte in seinem zweiten Versuch am 29ten August und stellte am 10ten November, also am 73. Tage die Diagnose des Impfbotryomykom. Letzteres war jedoch schon am 13ten Oktober vorhanden. In seinem ersten Versuch waren gewiss die Botryomykome innerhalb zwei Monaten entstanden. (Vergl. S. 4).

In dem KITT'schen Falle, angenommen er sei einwandfrei, wurde die Impfung am 11ten April ausgeführt, die Diagnose des Impfbotryomykom in der ersten Woche des August gemacht. Die Eruption war jedoch Ende Juli zu Stande gekommen. In diesem Falle hat also das Impfbotryomykom länger als $3^1/_2$ Monat auf sich warten lassen. Dies stimmt im Allgemeinen nicht mit den RABE'schen Beobachtungen und mit meinem Falle überein und macht die Möglichkeit einer späteren zufälligen Infektion nicht unwahrscheinlicher.

PONCET und DOR impften am 15ten Juli und sahen am 6ten August einen Impftumor entstehen also 20 Tagen nach der Impfung. Sie haben nicht untersuchen können ob wirklich ein *Botryomykom* entstanden war, so dass ihre Angaben in Bezug auf die Zeit der Entstehung keinen Werth haben, während auch sonst dieser Impfversuch wenig belangreich ist. Ich habe schon gesagt (S. 17), dass HELL in etwa zwei Monaten bei seinem Versuch an einem Pferde noch keine Veränderungen wahrnehmen konnte,

welche Botryomykome an der Impfstelle erwarten liessen. Es lässt sich nicht entscheiden, ob sie nicht entstanden sein würden, aber die Zeiträume, in denen sie in den RABE'schen und in meinem Falle entstanden sind, machen es jedenfalls etwas zweifelhaft.

Für die erwähnten Versuche bei kleineren Thieren hat das mitgetheilte Experiment grossen Werth, weil es unzweideutig den Beweis liefert, dass der Microorganismus, mit dem die Versuche angestellt wurden, wirklich der Micrococcus botryogenes war, und also die *Impfresultate bei den genannten Versuchsthieren auf diesen Spaltpilz Beziehung haben.*

N°. 35. Wie schon gesagt, wurde dasselbe Pferd von Versuch N°. 34 auch an der *rechten* Halsseite inokulirt mit der zwei Tage alten Kultur vom Meerschweinchen N°. 20. Diese Kultur stellte eine 12te Generation der ursprünglichen Botryococcenkultur dar, welche dreimal den Meerschweinchenkörper passirt hatte.

Für die allgemeinen Symptome nach der Impfung, welche gleichfalls der vorigen zuzuschreiben sind, verweise ich auf Experiment N°. 34.

Die Einspritzung fand auch mittags $2^1/_2$ Uhr statt. Abends teigige etwas warme Anschwellung, 1 dm lang, $^1/_2$ dm breit. Am folgenden Morgen war sie schmerzhaft, sehr heiss und vergrössert. Am Abend hatte sie sich noch weiter ausgebreitet und zeigte in der Mitte, an der Injektionsstelle einen harten, prominirenden Theil. Am 14ten ging die Schwellung etwas zurück, nahm am 15ten wieder zu, am 16ten wieder ab. Der prominirende Theil hatte sich jedoch mehr erhoben, und Fluctuation war deutlich zu fühlen. Am 17ten war der Tumor bis zur Grösse eines Hühnereies zurükgegangen, sehr prominent mit Neigung zur Perforation. Am 18ten jedoch wurde die Schwellung flacher, am 19ten war sie so gross wie ein Taubenei; die Perforation liess auf sich warten, der Tumor blieb aber weich. Der Zustand hielt sich nun während einiger Tage stationär. Am 23sten ging der Tumor zurück. Am 27sten war noch eine kleine, ovale, feste Infiltration vorhanden. Diese blieb bestehen, immer im Abnehmen begrif-

fen, bis zum 17ten September; an jenem Tage war sie bis auf ein kleines, kaum fühlbares Knötchen zurückgegangen. Von einer Eruption ist nachher nicht die Rede gewesen, und obwohl von dem genannten Knötchen erst am 29ten Oktober *gar nichts* mehr zu fühlen war, darf doch wohl gesagt worden, dass schon am 17ten September jede Entzündung an der Impfstelle verschwunden war. Verglichen mit dem in dem vorigen Experiment Wahrgenommenen konnte man hier Anfang Oktober, also innerhalb von zwei Monaten, schon sagen, dass diese Impfung ohne Resultat bleiben würde, wie es auch wirklich der Fall gewesen ist.

Dieser Versuch ist aber, gerade durch das Ausbleiben des Impfbotryomykom von sehr grossem Interesse. Es ist doch daraus ersichtlich, *das der Botryococcus, ohne seine Virulenz einzubüssen, das Vermögen Botryomykome zu erzeugen, verlieren kann.* Dass der Botryococcus in dem Versuch N°. 35 seine Virulenz nicht eingebüsst hat, ist daraus ersichtlich, dass in diesem Falle die Impfreaktion, bestehend in entzündlicher Anschwellung, heftiger und grösser war als an der linken Halsfläche, wo später Botryomykose aufgetreten ist. Es hat wahrscheinlich sogar Eiterung bestanden, da es während einiger Tage den Anschein hatte als ob eine Perforation erfolgen würde.

Was ist nun die Ursache des Verlustes von botryogenen Eigenschaften der Kultur des Impfversuches N°. 35? Sie, ebenso gut wie die in N°. 34 verwendete, stammen in gerader Linie von den ursprünglichen, aus Botryomycesrasen gezüchteten Botryococcen ab. Wenn Verlust der ursprünglichen Eigenschaften zu befürchten war, würde man dies eher von der in N°. 34 verwendeten Kultur erwartet haben; diese war zwar nur eine 4te Generation der ursprünglichen Kultur, aber sie war in grossen Zwischenräumen, einmal selbst nach Ablauf von drei Monaten übergeimpft worden, und das nicht regelmässige und zeitige Ueberimpfen ist eine der gewöhnlichen Ursachen des Verlustes von pathogenen Eigenschaften bei Bakterien.

Die Kultur des Versuchs N°. 35 hingegegen stammte frisch

aus einem Versuchsthier. Sie war ziemlich regelmässig übergeimpft worden, nur die 2te Generation war mehr als einen Monat alt. Dabei war sie dreimal durch den Körper von Meerschweinchen gegangen, ein Verfahren, dass bei vielen pathogenen Microorganismen die Eigenschaften auffrischt!

Aber von einer geringeren Virulenz war in dem zweiten Falle nicht die Rede; die Impfreaction war sogar heftiger, wie aus der grösseren Anschwellung und der Neigung zur Abscedirung ersichtlich ist. Sollte die geringe Neigung zur acuten Eiterung in N°. 34 das botryogene Vermögen vergrössert haben, und sollte durch die grössere Neigung dazu im Falle N°. 35 jenes Vermögen verloren gegangen sein? Oder ist das mehrfache Ueberimpfen und die dreimalige Passage durch Versuchsthiere im letzteren Falle daran Schuld?

Wie aus den zahlreichen Versuchen an Kaninchen und Meerschweinchen abzuleiten ist, veranlasst der Botryococcus dabei in vielen Fällen Eiterung; in diesem Eiter sind aber niemals Botryomycesrasen zu finden. Kann das botryogene Vermögen in dem Körper der Versuchsthiere verschwunden sein? Man konnte sich diese Möglichkeit denken, aber nothwendig und wahrscheinlich ist dieses Verschwinden nicht. Ich ziehe diesen Schluss aus den Mittheilungen von RABE, welcher sagt (loc. cit. S. 151), dass er für *seine zweite Pferde-Impfung eine 8te Generation verwendete, wovon die 4te Generation im Organismus eines Meerschweinchens gezüchtet worden war.* Wie früher gesagt ist der zweite Versuch von RABE eklatant gelungen, und die zu letzt erwähnte Mittheilung bildet keine Stütze für die Meinung, dass die vielmalige Verimpfung und Passage durch das Meerschweinchenkörper, das botryogene Vermögen des Micrococcus botryogenes abtödten könne.

Wie sich die Sache verhält ist vielleicht durch viele neue kostspielige und zeitraubende Versuche an Pferden aufzuklären. Das praktische Resultat von Versuch N°. 35 ist jedoch, dass der *Micrococcus botryogenes, welcher bei Pferden Botryomykose erzeugte (N°. 34) in der Weise verändert werden kann, dass diese Wirkung ausbleibt, und dass das Impfresultat dem von gewöhnlichen Eiterstaphylococcen ähnlich ist* (N°. 35). Dass dieses letztere der Fall

ist folgt aus der Neigung zur Abscedirung und weiter aus den Resultaten von mit Eiterstaphylococcen an Pferden angestellten Versuchen.

Die weiteren an Pferden angestellten Versuche hatte den Zweck die Wirkung von Staphylococcus pyogenes aureus und albus bei diesen Thieren zu prüfen und speziell zu untersuchen, ob es möglich sei mittelst dieser Eitercoccen bei Pferden Botryomycosis zu erzielen.

Am 2ten Januar 1898 erhielt ich eine Agarkultur von Staphylococcus pyogenes *albus*, welche am 31sten Dezember 1897 aus einem Mamma-Abscess eines Weibes gezüchtet worden war. Diese 2 Tage alte Kultur wurde sofort auf frisches Glycerinagar übergeimpft und war am 3ten Januar bei Bruttemperatur reichlich gewachsen. Bei den weiteren Beobachtungen dieses Microorganismus ist goldgelbe Farbstoffbildung immer ausgeblieben. Es war also wirklich der Staphylococcus *albus*.

Mit diesem Staphylococcus wurde ein Pferd geimpft und zur Kontrolle zwei Meerschweinchen. Ueber das bei den letztern Wahrgenommene berichte ich nachher, nach Abhandlung des Versuchs beim Pferde.

N°. 36. Am 3ten Januar 1898, nachmittags $2^1/_2$ Uhr erhielt eine 27 Jahre alte dunkelbraune, mit Lungenemphysem behaftete Stute, ein sonst noch sehr kräftiges und wohl genährtes Thier, $3^1/_2$ ccm Kulturflüssigkeit, gewonnen durch schütteln einer Glycerinagarkultur des erwähnten Staphylococcus albus mit sterilem, destillirtem Wasser, subcutan an der linken Halsfläche. Die Körpertemperatur des Pferdes betrug 37.5° C. Abends 8 Uhr Temp. 38.7° C. Flache Anschwellung 1 dm lang, $^3/_4$ dm breit an der Impfstelle, ziemlich schmerzhaft. 4 Jan. morgens 11 Uhr: Anschwellung sehr zugenommen, flach, heiss, wenig schmerzhaft, bis zur Drosseladerrinne sich erstreckend. In dieser Rinne selbst ein faustgrosses, weiches Oedem.

5 Jan. Die Anschwellung hat sich wenig verändert. In der Mitte ist eine Vertiefung zu sehen, welche schmerzhaft ist. Das Oedem ist verschwunden. Am folgenden Tag ist der Impftumor

sehr heiss, flach, $1^1/_2$ dm lang und breit, und fühlt sich an wie Pergament. Es droht Absterben eines Hautstückes. Am nächsten Tag ist die Schwelluug mehr circumscript und ist etwas kleiner geworden. Am 8ten Januar ist sie 1 dm lang und breit; die Haare sind an einer Stelle, so gross wie ein Fünf-Markstück ausgefallen. Dort ist deutlich Fluctuation wahrnehmbar. Am 10ten Januar ist die Fluctuation ausgesprochener. Der Zustand blieb nun während einiger Tage immer derselbe. Die Haut an dem unteren Theil der Anschwellung, welch letztere noch stets 1 dm lang und breit war, wurde immer dünner und glänzender, während der Haarverlust zunahm. In der Nacht vom 14 bis 15 Januar war Perforation eingetreten. Es entleerte sich sehr viel dünner gelbfarbiger Eiter *ohne Botryomycesrasen.* Die Haut des Abscesses wurde desinfizirt und jetzt Eiter aufgefangen, aus dem ein Deckglaspräparat, eine Glycerinagarkultur und eine Gelatinekultur angefertigt wurden. Auch bei der mikroskopischen Untersuchung waren keine Botryomycesrasen zu finden.

Am 17ten Januar waren die Kulturen rein gewachsen als Staphylococcus *albus.* Auch später wurde kein gelber Farbstoff wahrgenommen. Das Deckglaspräparat zeigte schöne, nach GRAM'scher Methode färbbare Staphylococcen. Es waren an jenem Tage drei kleine Oeffnungen neben einander in der Abscesshaut vorhanden; die Eiterung war noch reichlich. Am 18ten wurde sie geringer, am 20sten hatten sich Schörfchen an den Oeffnungen gebildet. Am 22ten waren die Wunden geschlossen; es war aber an der Stelle noch ziemlich viel Infiltration, welche am 26ten $^3/_4$ dm lang und breit war und wieder fluctuirte. Am 31sten war die Schwellung wieder kleiner geworden und von jenem Tage an wurde der Umfang immer kleiner. Am 22sten Februar war eine strangförmige Bindegewebsverdickung übrig geblieben, welche am 8ten März auf 2 etwa $^1/_2$ dm unter einander gelegene Knötchen reduzirt war. Unterdessen hatte die Abscesshaut schwarze Haare bekommen. Diese Knötchen blieben lange bestehen, wurden aber kleiner. Noch am 6ten Juni waren sie zu fühlen. Von Botryomykombildung ist aber nicht die Rede gewesen, oberwohl schon 5 Monate vorübergegangen sind. Und auch bis heute, wo ich

dies niederschreibe, Dezember 1898 hat das Pferd nichts abnormes an der Impfstelle gezeigt, während die Knötchen verschwunden sind.

Diese Impfung hat also gelehrt:

1. dass Verimpfung des Staphylococcus pyogenes albus hominis subcutan beim Pferde einen Abscess erzeugt, welcher in 11 Tagen perforirt;

2. dass nach der Heilung dieses Abscesses von Botryomykombildung nicht die Rede gewesen ist.

Der erste Theil des Impfresultates zeigt viel Uebereinstimmung mit der von KITT vorgenommenen Impfung mit Botryomyces bei einem Pferde (sieh S. 10), bei der schon nach 6 Tagen Perforation erfolgte, während der Eiter keine Botryomycesrasen enthielt.

Wie gesagt wurden mit dem verwendeten Staphylococcus Kontrollversuche bei Meerschweinchen angestellt. Dies war nothwendig um zu zeigen, dass die Eitercoccen ihre Virulenz nicht eingebüsst hatten, auch wenn die Impfung des Pferdes vielleicht ohne Resultat geblieben wäre. Ueberdies waren diese Versuche erwünscht um die Wirkung von Staphylococcen bei Meerschweinchen näher zu prüfen. Wie früher gesagt, haben die Botryococcen grosse Neigung bei Meerschweinchen Abscessbildung zu erregen, wenn sie subcutan einverleibt werden. Obwohl diese Wirkung auch von den gewöhnlichen Eitercoccen zu erwarten ist, war sie doch in den Versuchen N°. 2 und N°. 4 in denen Staphylococcus aureus bei Meerschweinchen eingespritzt wurde, nicht aufgetreten, sondern war nur vorübergehende Entzündung wahrgenommen worden. Auch in dieser Hinsicht hielt ich die Kontrollversuche für wünschenswerth, weil mir viel daran gelegen war diejenigen Staphylococcen zu verwenden, welche bei Versuchsthieren eine den Botryococcen ähnliche Wirkung hatten.

N°. 37 und 38. Am 3ten Januar 1898, also demselben Tag, an welchem das Pferd geimpft worden war, wurden 2 Meerschweinchen mit demselben Staphylococcus geimpft. Sie erhielten beide 4 ccm Kulturflüssigkeit an der Innenfläche des linken Hinter-

schenkels. Die Quantität wurde so gross genommen, weil, wie bekannt, Staphylococcen sehr bald ihre Virulenz einbüssen können, letztere überhaupt öfters sehr wenig ausgesprochen sein kann. Bei Anwendung grösserer Quantitäten Kulturflüssigkeit hoffte ich etwaige Virulenz sicherer entdecken zu können.

Am 4ten Januar zeigten beide Caviae grosse ödematöse Anschwellungen an der Impfstelle. Sie waren traurig. Die Tumefaktionen gingen in den nächsten Tagen nur wenig zurück. Bei N°. 37 drohte Nekrose eines Hautstückes. Am 7ten Januar hatte sich die Entzündung auf die Bauchwand fortgesetzt. Am 8ten Januar zeigte N°. 37 an der Bauchhaut eine nekrotisirte Stelle. Am 10ten Januar waren die beiden Hautstücke bei N°. 37 gangränös. Die Demarcation hatte durch heftige Eiterung stattgefunden. Das andere Meerschweinchen zeigte noch immer Anschwellung an Impfstelle und Bauchwand. Am 12ten Januar jedoch war ein trockenes Absterben eines Hautstückes an der Bauchwand bemerklich. Am 13ten Januar war an der Impfstelle bei N°. 38 Fluctuation zu fühlen. Der Abscess wurde am 15ten Januar geöffnet. Es entleerte sich viel weisser Eiter, dadurch unterschieden von dem mehr gelblichen Eiter welchen der Botryococcus gewöhnlich bei Meerschweinchen bildete, und die Untersuchung des Eiters liess keine Botryomycesrasen erkennen. Die aus dem Eiter angelegten Kulturen wuchsen *weiss* wie Staphylococcus pyogenes albus. Ein Deckglaspräparat des Eiters zeigte schöne, nach GRAM'scher Methode färbbare Staphylococcen.

Die Wunden von beiden Meerschweinchen heilten regelmässig ab.

Der Staphylococcus albus hat also in diesem Falle trotz der Einspritzung von grösseren Kulturmengen, nur eine mässige Virulenz gezeigt, bestehend in nekrotisirenden und zur Eiterung führenden Processen an der Impfstelle. Dass der Coccus virulent war, war überhaupt schon aus der Wirkung beim Pferde ersichtlich geworden.

Auf den mit Staphylococcus albus angestellten Versuch folgte einer mit *Staphylococcus aureus*.

N°. 39. Am 9ten Januar 1898 erhielt ich vom Herrn KRÁL in Prag eine Petri-Schale mit Glycerinagar, in der der Influenza-

bacillus und der *Staphylococcus pyogenes aureus* nach der Methode GRASSBERGER [1]) zusammengewachsen waren [2]). Herr KRÁL war der Meinung, dass der Staphylococcus für Kaninchen wohl noch virulent sein würde.

Sofort wurde der Staphylococcus auf Glycerinagar übergeimpft. Bei 37° C. war er am folgenden Tag üppig gewachsen und zwar rein.

Die Kultur wurde mit sterilem destillirtem Wasser geschüttelt. Um $2^1/_2$ Uhr nachmittags erhielt das Pferd, welches am 3ten Januar an der linken Halsfläche mit Staphylococcus pyogenes albus geimpft worden war, jetzt an der rechten Halsfläche $3^1/_2$ ccm der Kulturflüssigkeit subcutan. Zur Kontrolle erhielten zwei Meerschweinchen je 4 ccm subcutan an der Innenfläche des rechten Hinterschenkels, mit dem nachher unter N°. 40 und 41 zu erwähnenden Resultate.

Abends 11 Uhr hatte das Pferd, dessen Temperatur bei der Einspritzung normal war, eine Körperwärme von 38.7°. An der Impfstelle war eine grosse, flache, heisse Anschwellung zu sehen 3 dm lang, 2 dm breit, und ein ziemlich ausgebreitetes Oedem an der Vorderfläche des Halses. Am nächsten Tag hatte die Anschwellung etwas abgenommen; das Oedem war verschwunden. Am 13ten Januar hatte die Schwellung eine unregelmässige Form und war etwa 1 dm lang und breit. Am 15ten Januar war sie rund geworden, am 17ten oval, 1 dm lang, $^3/_4$ dm breit und ziemlich hart. In den nächsten Tagen wurde sie kleiner und weicher, am 26sten Januar war sie jedoch ein wenig grösser und fluctuirte. Am 28sten war die Fluctuation nicht mehr zu fühlen, der Tumor fühlte sich teigig an. Von jenem Tage an verringerte sich die Anschwellung allmählich. Am 22sten Februar war eine subcutane Infiltration von der Grösse eines Taubeneies zurückgeblieben, welche am 15ten März fast ver-

---

1) Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten, Bd. 25, Heft III.

2) Herrn KRÁL in Prag statte ich hiermit meinen herzlichen Dank ab für die liebenswürdige Uebersendung mehrerer Staphylococcenkulturen, welche er kostenfrei zu meiner Verfügung stellte. Nicht immer war es mir möglich hier in *Leiden* frische Kulturen zu erlangen.

schwunden war, die Haut hatte sich an dieser Stelle mit dunkeln Haaren bedeckt. Am 21sten März war die Infiltration ganz und gar verschwunden. Das Pferd wurde beobachtet bis zum 6ten Juni, also während etwa fünf Monate nach der Impfung. Es wurde aber nichts Abnormales an der Impfstelle wahrgenommen, und auch jetzt ist ein Botryomykom nicht entstanden.

Das Resultat der Impfung war also:

1. Nach Impfung des Pferdes mit Staphylococcus pyogenes aureus hominis war an der Impfstelle eine heftige phlegmonöse Entzündung entstanden, mit Neigung zur Abscedirung (Fluctuation), welche verschwunden ist ohne irgend welche Spur zu hinterlassen.

2. Ein Botryomykom ist an der Impfstelle nicht aufgetreten.

Weil Abscedirung nicht aufgetreten ist, hat der erste Theil des Versuches grosse Aehnlichkeit mit N°. 34 und N°. 35, in denen mit Botryococcen geimpft wurde. Mit N°. 35 zeigt er sogar sehr grosse Aehnlichkeit, insofern auch dort kein Botryomykom entstand.

N°. 40 und N°. 41. Zwei Meerschweinchen hatten am 10ten Januar je 4 ccm derselben Kulturflüssigkeit subcutan am linken Hinterschenkel erhalten. Die Dose war auch jetzt wieder so gross genommen, um bei schwacher Virulenz doch noch ein merkbares Resultat zu bekommen. Dass der verwendete Staphylococcus heftig virulent war, ist ersichtlich aus den Folgen der Impfung.

Am 11ten Januar hatten die Meerschweinchen grosse schmerzhafte Schwellungen an der Impftstelle, welche in den nächsten Tagen etwas abnahmen. Am 13ten Januar war N°. 40 krank. Die Krankheit verschlimmerte sich; am 16ten waren die Augenlider zusammengeklebt; das Thier starb in der Nacht vom 19 bis 20 Januar.

Die Obduktion ergab: Unter der Haut an der Impfstelle einen kleinen Abscess; tiefer, an der Vorderfläche des Schenkelbeins einen grösseren Abscess. Eine kleine Quantität Flüssigkeit im Abdomen. Grosse Milz mit einzelnen weissen Pünktchen. In den Nieren kleine weisse Pünktchen (Abscesse). Die übrigen Organe blutreich, aber sonst normal. Kulturen wurden

angelegt aus Milz, Nieren und dem Schenkelbeinabscess. Die Kulturen aus der Milz sind steril geblieben. In denen aus Nieren und Abscess sind reine Staphylococcen gewachsen, welche sich am 31sten Januar durch Produktion von gelbem Farbstoff als Staphylococcus pyogenes aureus entpuppt haben. Das Thier war also an Septiko-Pyämie gestorben.

Die Anschwellung an der Impfstelle von N°. 41 war am 16ten Januar rund und nussgross. Am 20sten war Fluctuation zu fühlen; der Abscess wurde eingeschnitten und es entleerte sich dicker weisser Eiter, in dem keine Botryomycesrasen zu finden waren. In dem Eiter zahlreiche Coccen. Angelegte Kulturen haben sich als solche vom Staphylococcus aureus entwickelt.

Die Virulenz des verwendeten Staphylococcus aureus war also so stark, dass sie in einem Falle den Tod eines Meerschweinchens herbeiführte, während es bei dem Pferde bloss zu einer heftigen reaktiven Entzündung kam. Bei dem Albus verhielt es sich anders; dort erfolgte bei den Meerschweinchen nur Eiterung und Abscessbildung, bei dem Pferde erfolgte eine heftige Reaktion und zwar auch Abscessbildung mit Perforation. Ich glaube das Ausbleiben des Absceses nach der zweiten Impfung desselben Pferdes nicht mit der ersten an jenem Thiere angestellten Impfung in Zusammenhang bringen zu können, erstens weil die Versuche ziemlich gleichzeitig vorgenommen wurden, und zweitens weil bei der zweiten Impfung die sofort nach der Injektion aufgetretenen Entzündungssymptome selbst heftiger waren als in dem ersten Falle.

Ein Impfbotryomykom blieb aber in beiden Fällen aus.

Dasselbe Resultat wurde in zwei weiter angestellten Versuchen an Pferden erzielt. Weil es mir, aus leicht zu vermuthenden Gründen, nicht möglich war ein drittes Versuchspferd zu bekommen, habe ich diese angestellt an dem ersten Pferde, welches mit Botryococcen an beiden Halsflächen am 12ten August 1897 geimpft worden war. Im Februar 1898 war die Impfreaktion an der rechten Halsfläche schon seit November des vorigen Jahres verschwunden. An der linken Halsfläche bestand noch immer die Impfbotryomykose.

Ich habe gemeint weitere Impfungen an diesem Pferde ohne Furcht für eventuell erworbene Immunität gegen Botryomyces ruhig vornehmen zu können, umsomehr als RABE angiebt: „eine *Immunität* gegen spätere Invasion des fraglichen Micrococcus (botryogenes) erwerben Pferde durch die Impfung nicht" (siehe S. 5). Er schliesst dies aus den mehrfachen Impfungen, welche er bei seinem zweiten Versuchspferde vorgenommen hat, und wovon die zuletzt angestellten nur kurz von ihm erwähnt wurden, indem dabei die Impfbotryomykose auch nicht mikroskopisch festgestellt wurde, wahrscheinlich jedoch vorhanden war. Und auch eine Staphylococcen-Impfung lässt keine Immunität zurück. Für den Augenblick also angenommen, dass Botryococcus und Staphylococcus identisch seien, so ist dies keine Contraindication gegen das Vornehmen von Impfungen an einem und demselben Pferde.

N⁰. 42. Am 5ten Februar 1898 züchtete ich aus einer Aknepustel eines Kollegen einen schönen *Staphylococcus aureus*. Am 7ten Februar war er schön goldgelb und üppig auf Glycerinagar gewachsen. Kulturen wurden mit sterilem destillirtem Wasser geschüttelt und die erhaltene Flüssigkeit zur Impfung des Pferdes und zur Kontroll-Impfung eines Meerschweinchens verwendet.

Das Pferd erhielt am 7ten Februar abends $8^1/_2$ Uhr 4 ccm Kulturflüssigkeit an der rechten Halsseite also dort, wo die Botryococcen-Impfung resultatlos geblieben war. Am nächsten Tag morgens $6^3/_4$ Uhr war eine flache, wenig schmerzhafte Anschwellung, 2 dm lang, $1^1/_2$ dm breit entstanden, welche abends 8 Uhr sehr schmerzhaft war und in der Mitte einen ovalen, prominirenden Theil zeigte.

Am 9ten Februar abends $9^1/_2$ Uhr war die Anschwellung gleich gross geblieben, der erhabene Theil war 1 dm lang, $^1/_2$ dm breit und war sehr empfindlich. Die Körpertemperatur des Pferdes war 39.7° C., es war offenbar krank. Am 10ten Februar abends fluctuirte der prominirende Theil, und in der Nacht erfolgte Perforation. Am 11ten Februar Nachmittags 3 Uhr wurde etwa $^1/_2$ Liter gelber Eiter ausgedrückt, aus dem Kulturen angelegt wurden. In dem Eiter keine Botryomycesrasen. Am nächsten

Tag war die Oeffnung wieder geschlossen; der Abscess wurde durch Druck entleert. Nachher schloss sich die Oeffnung wieder mittelst eines Schorfes. Am 14ten Februar machte ich unten eine kleine Oeffnung um das Abfliessen des Eiters zu befördern. Es bildete sich nun ein Schorf über der ganzen Abscess-Haut; am 17ten waren die Oeffnungen geschlossen und es floss kein Eiter mehr aus. Die Heilung trat ein, ohne Zurücklassung eines Infiltrats. Am 28ten Februar war nur sehr wenig an der Impfstelle zu sehen und eine etwaige Neubildung ist nachher nicht aufgetreten. Am 23ten Juni, also $4^1/_2$ Monat nach der Impfung wurde das Thier getödtet. Haut an der Impfstelle und letztere selbst waren normal.

Diese Impfung hat also gezeigt:

1. Dass der eingespritzte Staphylococcus aureus beim Pferde einen Abscess entstehen liess, welcher in drei Tagen perforirte;

2. Dass nach Abheilung dss Abscesses ein Botryomykom nicht aufgetreten ist.

Die Resultate zeigen also grosse Uebereinstimmung mit denen von Versuch N°. 36, wo mit Staphylococcus albus geimpft wurde.

N°. 43. Zur Kontrolle der für die soeben erwähnte Impfung verwendeten Kulturen hatte am 7ten Februar ein Meerschweinchen, nachmittags 4 Uhr, 3 ccm Kulturflüssigkeit subcutan an der Innenfläche des linken Hinterschenkels erhalten. Abends 11 Uhr war schon Anschwellung aufgetreten, welche am nächsten Tag zugenommen hatte. Am 9ten Februar war das Thier krank; die geschwollene Impfstelle war sehr schmerzhaft; das Bein wurde in die Höhe gezogen. Am 10ten war das Thierchen sehr traurig, moribund und starb während der Nacht. Die Obduktion ergab: Heftige Anschwellung an der Impfstelle, verursacht durch haemorrhagische Entzündung des subcutanen Gewebes, welche sich bis unter die Bauchhaut ausbreitete; keine Eiterung an der Impfstelle. Im Abdomen ein wenig blutige Flüssigkeit. Die Bauchorgane sind vergrössert, blutreich, mürbe; die Nieren jedoch sind bleich. Lungen sind stark bluthaltend; keine Flüssigkeit in dem Thorax. Kulturen wurden angelegt von der Impfstelle, aus

Leber, Milz und dem rechten Herzen. Diejenigen aus Leber und Herz sind steril geblieben, die Kulturen von der Impfstelle und Milz waren schöne Reinkulturen von Staphylococcus pyogenes aureus. Das Thier war also an Septikämie gestorben.

In diesem Falle war also die Folge der Impfung beim Meerschweinchen in Uebereinstimmung mit der Wirkung beim Pferde. Der Staphylococcus war so stark virulent, dass beim Meerschweinchen in 3 Tagen der Tod, beim Pferde in 3 Tagen Abscessbildung die Folge gewesen war.

N°. 44. Am 15ten Februar erhielt ich von KRÁL in Prag eine Reinkultur von Staphylococcus pyogenes albus hominis. Der Absender konnte keine näheren Angaben betreffs der Virulenz geben. Die Kultur wurde sofort in Röhrchen mit frischem Glycerinagar übergeführt.

Mit diesem Staphylococcus habe ich das zu N°. 34, 35 und 42 verwendete Pferd, welches zur Zeit in der Mitte der linken Halsfläche die aus einzelnen Knötchen bestehende Impfbotryomykose zeigte, an der selben Halsfläche, jedoch weiter nach hinten und unten geimpft, etwa $1^1/_2$ dm von den Botryomykomen entfernt.

Die Kulturen waren am 16ten Februar üppig gewachsen; sie wurden mit sterilem, destillirtem Wasser geschüttelt und vormittags $11^1/_2$ Uhr wurde dem Pferde 3 ccm Kulturflüssigkeit eingespritzt. Abends $9^1/_2$ Uhr war ein deutliche reactive Anschwellung, $^1/_2$ dm lang, $^1/_4$ dm breit vorhanden, welche am folgenden Morgen sich etwas vergrössert hatte. Die Staphylococcen waren also nur mässig virulent, was auch aus dem weiter zu erwähnenden Kontrollversuch bei einem Meerschweinchen ersichtlich ist.

Am 18ten Februar hatte die Anschwellung die Grösse eines Taubeneies, war heiss, schmerzhaft und hart. Am 19ten war sie grösser, 1 dm lang, $^1/_2$ dm breit, während in der Mitte der taubeneigrosse Theil, welcher am vorigen Tag zu sehen war, prominirte. Nachher wurde die Anschwellung im Ganzen kleiner,

der prominirende Theil jedoch grösser, obwohl letzterer hart blieb. Am 22sten war der Impftumor wieder zur Grösse eines Taubeneies zurückgegangen, war weicher geworden, fühlte sich aber mehr teigig als fluctuirend an. Am 25sten war die Schwellung fast verschwunden; die Impfstelle war noch schmerzhaft; am 28sten war die Anschwellung ganz und gar weg. Nachher ist von einer etwaigen Neubildung gar nicht die Rede gewesen. Am 23sten Juni, an welchem Tage das Pferd getödtet wurde, war die Impfstelle in jeder Hinsicht normal.

Also hat:

1. die Impfung des Staphylococcus albus in diesem Falle keinen Abscess, sondern nur vorübergehende reaktive Entzündung verursacht;

2. auch diese Inokulation nicht zur Bildung eines Botryomykom geführt;

Dieser Versuch ist in seinem Resultat dem von N°. 39, wo mit mit Staphylococus pyogenes aureus verimpft wurde, ähnlich.

Dass wirklich in diesem Falle die Virulenz des Staphylococcus pyogenes albus, obwohl anwesend, ziemlich gering war erhellt aus dem Kontrollversuch.

N°. 45 an einem Meerschweinchen. Diesem injicirte ich 2 ccm Kulturflüssigkeit an der Innenfläche des linken Hinterschenkels am 16 Februar, nachmittags 3 Uhr. Am nächsten Tag war die Impfstelle deutlich angeschwollen, welche Anschwellung am 18ten nussgross war. Am 19ten wurde die Anschwellung etwas kleiner, sie war jedoch mehr umschrieben, sodass ich meinte es würde ein Abscess folgen. Fluctuation war jedoch auch in den folgenden Tagen nicht zu fühlen, und am 25sten fing der Impftumor an abzunehmen. Am 28sten war sie fast verschwunden, und am 7ten März war sie ganz weg. Der Staphylococcus war also wenig virulent und das Impfresultat war annähernd dasselbe wie in den Versuchen N°. 2 und N°. 4.

Wenn wir zusammenfassen was sich aus den an Pferden angestellten Versuchen ergeben hat, so ist erstens bewiesen worden, dass der von mir aus Botryomycesrasen im Eiter eines Pferdes gezüchtete Micrococcus, wirklich der *Micrococcus botryogenes* war.

Der erste Versuch bei einem Pferde (N°. 34) hat dies unzweideutig gezeigt. Weiter hat sich ergeben, dass dieser Micrococcus botryogenes seine botryogenen Eigenschaften verlieren und sich denen der gewöhnlichen Eiterstaphlococcen nähern kann (N°. 35). Nicht nur in Bezug auf die Wirkung bei den gewöhnlichen Laboratoriumsversuchsthieren, sondern auch hinsichtlich derselben bei Pferden ist also eine grosse Aehnlichkeit zwischen Botryococcus und Staphylococcus anzunehmen.

Weiter haben die Versuche uns über die Wirkung von beim Pferde geimpften Staphylococcus pyogenes aureus und albus hominis, aufgeklärt, eine Sache von der bis heute wenig bekannt war (Sieh S. 14) [1]). In den 4 angestellten Versuchen ist zu Tage gekommen dass der Staphylococcus aureus so gut wie der albus, beim Pferde subcutan injicirt entweder Abscessbildung gibt (N°. 36 und 42) oder zur vorübergehenden phlegmonösen Entzündung (N°. 39 und N°. 44) führt. Dieselbe Wirkung wird von dem Botryococcus ausgeübt, wie theilweise aus N°. 35, anderntheils aus dem Resultate der KITT'schen Impfung ersichtlich ist (sieh S. 10).

Mag also die Wirkung der Staphylococcen und der Botryococcen bei Pferden und anderen Versuchsthieren sehr übereinstimmen, so ist es doch nicht gelungen durch Staphylococcen Botryomykome zu erzeugen. Wohl ist es aber gelungen dem Botryococcus seine botryogenen Eigenschaften zu entziehmen. Ob der Eiterstaphylococcus dieselben annehmen kann, wozu nicht ausschliesslich der Pferdekörper wie KITT meinte, sondern auch der Körper von andern Hausthieren und dem Menschen dienen kann, ist nicht zu sagen. Weitere Versuche in dieser Hinsicht, wobei das Pferd doch wohl das geeignetste, aber auch das theuerste Versuchsthier ist, sind sehr wünschenswerth.

Dass die verwendeten Staphylococcen in ihren virulenten Eigenschaften nicht von dem Gewöhnlichen abweichen, ist aus den Kontrollversuchen N°. 37, 38, 40, 41, 43 und 45 ersichtlich, aus denen auch zu ersehen ist, dass die subcutane Einverleibung von

---

1) Vergleiche auch: OSTERTAG, Handbuch der Fleischbeschau, 2te Aufl. 1895, S. 472 und 481.

Staphylococcen und Botryococcen bei Meerschweinchen so ziemlich dieselben Folgen hat. Fügt man die Versuche N°. 2 und N°. 4 hinzu, dann haben die Staphylococcen dreimal Abscesse, 2 mal Septikämie und dreimal vorübergehende Entzündung hervorgerufen. Der Staphylococcus hat also in zwei Fällen heftigere Wirkung gehabt als der Botryococcus (sieh S. 41). Weil jedoch der Botryococcus in anderen Fällen auch Septikämie erzeugte, ist dieses kein praegnanter Unterschied.

An dieser Stelle muss noch erwähnt werden, das THOMASSEN einen Impfversuch mit Staphylococcen aus gewöhnlichem Eiter eines Menschen an einem Pferde angestellt hat [1]). Es wird nicht näher angegeben, welcher Staphylococcus, aureus oder albus verwendet wurde. Die Staphylococcen wurden unter die Haut gespritzt und es entstanden ausser runden Knoten, welche mikroskopisch untersucht aus Häufchen von Staphylococcen bestanden, auch starke Wucherungen des inter- und intramuskulären Bindegewebes, in dem grossen festen Knoten sich entwickelten.

Von einem Botryomykom war hier also nicht die Rede, denn es wird nicht gemeldet, dass man in den neugebildeten Knoten die characteristischen Botryomycesrasen, die traubenförmigen Coccenansammlungen gefunden hat, wie sie in den echten Botryomykomen angetroffen werden und in denen sie z. B. mittelst der GRAM'schen Färbung ziemlich schön zu demonstriren sind. Herr THOMASSEN hat mir ein Stückchen der nach seiner Impfung aufgetretenen Neubildungen zur Untersuchung übergeben. Die mikroskopische Untersuchung liess eine phlegmonöse Entzündung des inter- und intramuskulären Bindegewebes, das mit zahlreichen echten Eiterkörperchen infiltrirt war, erkennen. Von den eingespritzten Micrococcen waren jedoch nur sehr spärliche Exemplare zu finden, vielleicht auch deshalb weil der Tumor schon während geraumer Zeit in Alcohol aufbewahrt worden war. Dieses Resultat stimmt aber vollständig überein mit der

---

1) Sieh: J. DE HAAN en Dr. M. STRAUB, Voordrachten over Bacteriologie, Leiden, 1895, S. 284.

Wirkung der gewöhnlichen Eitercoccen, welche wie gesagt, eine phlegmononöse Entzündung herbeiführen können. Das Auftreten eines Botryomykom ist auch übrigens darum nicht wahrscheinlich, weil, wie Herr THOMASSEN mir mittheilte, der Impftumor etwa 14 Tage nach der Impfung extirpirt worden war. In jener kurzen Zeit pflegt ein Botryomykom sich nicht zu entwickeln, aber die Infiltration als Folge einer Injektion von Staphylococcen ist in jener Zeit noch vorhanden.

THOMASSEN theilt weiter noch mit (loc. cit.), dass er aus Mykofibromen in dem Omentum eines jungen Pferdes einen Staphylococcus aureus gezüchtet hat, welcher auf den gewöhnlichen Nährmedien *alle Eigenschaften des Staphylococcus pyogenes aureus zeigte*. Auch THOMASSEN ist also die Aehnlichkeit zwischen Botryococcen und Staphylococcen aufgefallen; über etwaige Identität hat er sich nicht ausgesprochen, obwohl der erwähnte Versuch doch wohl zur Lösung dieser Frage unternommen sein wird.

IV. Kultureigenschaften, Form-, Grösse- und Färbungsverhältnisse des Micrococcus botryogenes. Botryococcus und Staphylococcus.

Es wurde im Anfang dieser Arbeit gesagt, dass aus den typischen Botryomycesrasen, welche in Botryomykomeiter eines Pferdes vorhanden waren, die typische Kelchkultur von RABE gewonnen wurde. Dies musste also die Botryococcuskultur sein und nachher ist dieses durch das Experiment N°. 34 unzweidentig erwiesen worden.

Die Weiterzüchtung dieser ursprünglichen Kulturen, die aus den verschiedenen Versuchsthieren gezüchteten Botryococcenkulturen, und die verschiedenen zur Erforschung der Kultureigenschaften angestellten Kulturversuche haben gezeigt, dass die von RABE mitgetheilten Kulturmerkmale, welche man noch in der neuesten Literatur angegeben findet, in vielen Hinsichten unzutreffend sind, und dass die Auffassung von KITT und HELL, welche den Botryococcus mit Staphylococcus pyogenes, und namentlich *aureus* identificiren wollen, in meinen zahlreichen Kulturergebnissen eine starke Stütze findet.

Alsbald machte sich bei meinen Untersuchungen bemerklich, dass die ursprünglichen Gelatinekulturen, welche eine schöne blasenförmige Einsenkung am obern Theile des Stichkanals zeigten bei Ueberimpfung in neue Gelatine nicht immer wieder dieses nach RABE charakteristische Wachstum zeigten, sondern dass in vielen Fällen eine Verflüssigung der Gelatine in der Weise, wie dies bei Staphylococcus pyogenes aureus und albus beobachtet

wird auftrat; die genannte Wachsthumsform ist also kein constantes Ereigniss, wie dies von RABE behauptet wurde. Wenn z. B. der Botryococcus in Gelatine mit niedrigem Schmelzpunkt gebracht wurde, trat constant Verflüssigung ein, während in alter mit hohem Schmelzpunkte behafteter Gelatine vielfach, aber nicht immer, die Kelchbildung zum Vorschein kam. Auch in Gelatineplattenkulturen war das Wachsthum verschieden von den Angaben von RABE. Dieser sagt (sieh S. 2): „Eine Verflüssigung tritt auf den Platten, die schliesslich aussehen, als ob sie mit Blüttenstaub bepudert wären, nicht ein". Dies ist nun durchaus nicht der Fall. In allen von mir angelegten Plattenkulturen habe ich nach kürzerer oder längerer Zeit Verflüssigung eintreten sehen. Dasselbe ist überdies auch mit den Gelatinestichkulturen der Fall. Dass Verflüssigung im Gelatinestich auftritt hat zwar auch schon RABE angegeben (vergleiche S. 3), aber nach RABE ist die blasenformige Einstülpung die Regel, und bei dem weiteren Wachsthum hält die Eintrocknung mit der Verflüssigung gleichen Schritt und bleibt also das kelchförmige Wachsthum bis zum Ende bestehen. Dies ist durchaus nicht immer der Fall. Vielfach fängt die Kultur an mit einer schönen Blasenbildung um mit einer der Staphylococcen ähnlichen Verflüssigung zu enden.

Die Blasenbildung tritt auch in den Platten in einzelnen Fällen ein. Mann sieht dann in der Gelatine viele Einsenkungen in derselben Weise, wie in der Stichkultur. Es würde auch sehr befremden wenn diese Wachsthumsart ausschlieslich im Stich und nicht in der Platte sich zeigte. Ich habe schon auf Seite 22 ausdrücklich hervorgehoben, dass in den Gelatineplatten in denen Botryomyceseiter ausgesät worden war, sich an den Stellen wo die Botryomycesrasen lagen, *Einsenkungen* bildeten ohne dass von wahrer Verflüssigung die Rede war. Offenbar war dies derselbe Process wie die Blasenbildung in der Stichkultur.

Oefters beobachtete ich in den Gelatinestichkulturen eine unvollkommene Blasenbildung, insofern der Impfstich kelchartig einzusinken anfing um alsbald die gewöhnliche Verflüssigung zu zeigen. Ferner wurde wahrgenommen, dass die Kelchbildung sich vielfach manifestirte, wenn die Kulturen sofort aus Versuchs-

thieren angelegt wurden. Ich glaube dieses der Zahl der eingebrachten Bakterien zuschreiben zu müssen. Wenn man von einer Kultur überimpft, nimmt man in vielen Fällen ziemlich viel Material, und die grosse Zahl der eingebrachten Bakterien fördert die Verflüssigung, wodurch die Kelchbildung ausbleibt, während die aus den Organen von Versuchsthieren entnommene Zahl der Bakterien nicht immer so gross ist. Dieses Ereigniss wurde aber nicht constant wahrgenommen. Es wurde selbst die Bemerkung gemacht, dass während einer Periode der Untersuchungen die Gelatinekulturen fast alle Kelche zeigten, während in einer anderen Periode die gewöhnliche Verflüssigung vorherrschte.

Aus dem Mitgetheilten wird wohl ersichtlich sein, dass, obwohl das von RABE als charakteristisch aufgeführte Wachsthum von mir in einer sehr grossen Anzahl von Fällen beobachtet wurde (ich besitze sehr schöne photographische Abbildungen dieser Wachsthumsart, (sieh Taf. II, Fig. 5*a* und *b*), der Botryococcus doch auch in vielen anderen Kulturen eine Verflüssigung zeigte, welche mit der von Staphylococcus pyogenes übereinstimmte.

Die Kelchbildung ist also kein typisches, kein specifisches Kulturmerkmal. Dieses ist schon von KITT und später auch von HELL betont worden. Und diese Meinung wird auch dadurch gestützt, dass man die Kelchbildung in vielen Fällen sehr praegnant auch bei Staphylococcus aureus und albus beobachten kann. Dieses schon von HELL (sieh S. 17) gemeldete Ereigniss habe ich sehr oft bestätigen können; es macht die Wahrscheinlichkeit der Identität von Botryococcus und Staphylococcus immer grösser.

Dass die Kelchbildung ein Symptom des Verflüssigungsmodus ist, versteht sich. Sie ist eine Folge der langsamen Verflüssigung, in welchem Falle die Verdunstung gleichen Schritt hält mit, ersterer. In vielen Fällen ist also das Verflüssigungsvermögen des Botryococcus gering, geringer als z.B. bei Staphylococcus. Nicht constant ist dieses der Fall. Die Ansicht HELL's, dass der Micrococcus botryogenes nie vollständig verflüssigt (loc. cit. S. 477), muss ich entschieden ablehnen. Auch eine schnelle und vollständige Verflüssigung, wie bei Staphylococcus wurde von mir beobachtet.

Es existirt jedoch noch ein anderer Einfluss, welcher die Kelchbildung bei Botryococcus beherrscht. Vielleicht ist est auch dieser, welchen HELL gemeint hat. Wie später erwähnt werden soll ist das Wachsthum beim Botryococcus öfters viel *langsamer* als bei Staphylococcus. Und dieses übt natürlich einen grossen Einfluss auf die Verflüssigung aus.

Nicht nur die Gelatine, sondern alle gewöhnlichen Nährmedien, sind für den Botryococcus ausserordentlich gut geeignet. In Rinderbouillon, Glycerinbouillon, Milch, auf *Agar*, Glycerinagar, Rinderserum, Kartoffeln ist das Wachsthum ein vorzügliches. Sehr bald machte ich die Erfahrung, dass die Mittheilung von RABE, der Micrococcus botryogenes komme auf Agar nicht fort, durchaus irrig ist, wie dies schon von HELL betont worden ist. Er wächst auf Agar eben so gut wie in Gelatine.

Gewöhnlich hat während meiner Untersuchungen der Botryococcus die Eigenschaft gezeigt *gelben* Farbstoff zu erzeugen. In sehr vereinzelten Fällen war das Wachsthum ein gelbweisses und bisweilen war die Farbstoffproduktion fast gar nicht vorhanden; in der Merzahl der Fälle jedoch war die chromogene Eigenschaft sehr praegnant auch in den Gelatinekulturen. In dieser Hinsicht näherte der Microorganismus sich also dem Staphylococcus *aureus*. Wie es weiter mit dieser Aehnlichkeit steht wird sich nachher zeigen, wenn die Resultate der vergleichenden Versuchsresultate mit Botryococcus, Staphylococcus aureus und albus erörtert werden.

Zuvor will ich aber die Form-, Grösse- und Färbungsverhältnisse behandeln.

Wie schon 1884 von JOHNE betont wurde ist die Ursache des Mykofibrom ein *Micrococcus*, welcher in dem Körper der behafteten Thiere in der Form von traubenartigen Kolonien gefunden wird, wobei die Micrococcenhäufchen von einer Zoogloëahülle umgeben sind. Ich will hier zunächst hervorheben, dass man in dem Botryomyceseiter in vielen Fällen neben den sandkornartigen Botryococcenherden, auch öfters andere Bakterien und namentlich *Staphylococcen* beobachtet. Gewöhnlich werden diese für Verunreinigungen angesehen; die Uebereinstimmung, welche aber zwischen Botryococcen und Staphylococcen besteht,

wie besonders auch aus den Untersuchungen von HELL hervorgeht, lassen vermuthen, dass in dem Botryomyceseiter oder in den botryomykotischen Erweichungsherden, diese Staphylococcen nicht als zufällig hineingelangte Eitercoccen, sondern bloss als Botryococcen, welche keine kapselartige Hülle gebildet haben, aufzufassen sind. Dies geht auch wohl daraus hervor, dass die Staphylococcen nebst den Botryomycesrasen, vielfach in reiner Kultur angetroffen werden.

Wie dem nun auch sei, die Ursache des Mykofibrom ist ein Micrococcus, welcher hinsichtlich seiner Eigenschaft traubenförmige Gebilde, welche aus rundlichen die Mikrococcen enthaltenden zoogloëartigen Massen bestehen, zum Vorschein zu rufen, die verschiedenen Namen von Micrococcus ascoformans, Micrococcus botryogenes, Botryomyces und Botryococcus ascoformans erhalten hat. Die Gruppirung der Coccen jedoch in den Kulturen, welche so sehr mit denen des Staphylococcus pyogenes, namentlich des aureus übereinstimmen, lässt einen anderen Namen wenigstens als eben so zutreffend erscheinen.

Der Botryococcus erscheint im Eiter von Versuchsthieren und auch in den Kulturen als ein Micrococcus, welcher in verschiedener Weise gruppirt sein kann. Man findet Monococcen, Diplococcen, kurze Streptococcen und endlich eine Anordnung in verschiedener Richtung, welche man *Staphylococcen* nennt. Diese letzte Anordnung ist in den meisten Fällen in den Kulturen auf festen Nährmedien frappant ausgesprochen. Wenn man nun den Namen Staphylococcus als Bezeichung einer bestimmten Form von Micrococcen beibehalten will, was für die Eitercoccen noch vielfach geschieht, so scheint es angebracht auch hier von Staphylococcus zu sprechen und also z. B. von *Staphylococcus botryogenes.*

Wie dies von den gewöhnlichen Eitercoccen bekannt ist, ist die Staphylococcenform nicht immer anwesend. Man findet die Coccen öfters in 1.2 oder 3 Exemplaren zusammen. Besonders auch Diplococcen sind zu beobachten. Dies ist auch bei dem Botryococcus der Fall, und das paarweise Vorkommen ist auch schon RABE aufgefallen (loc. cit. S. 144). Besonders in Botryo-

cocceneiter, in Gelatine- und Bouillonkulturen konnte ich nebst Monococcen, Staphylococcen, kurze Streptococcen u. s. w. den Botrycoccus vielmals antreffen als einen Diplococcus dessen einzelne Kokken eine ungleiche Grösse haben, und deren Gestalt mehr bohnenförmig ist. Solches Vorkommen ist aber überhaupt nicht charakteristisch, sondern kommt auch bei den gewöhnlichen Eitercoccen vor.

Die Botryoocccen sind meistens, abgesehen von den in Theilung begriffenen Exemplaren, wozu auch die soeben genannten bohnenförmigen zu bringen sind, rund, mit nicht zu scharfer Contour, was übrigens wohl von der Färbung abhängt. Die nach der GRAM'schen Methode tingirten Exemplare haben gewöhnlich weniger scharfe Contouren.

Sie sind nicht alle gleich gross. RABE gibt an (loc. cit. S. 144), dass der Durchmesser schwankt von 1 bis 1.5 μ. Diese Angabe ist entschieden zu hoch. JOHNE [1]) nennt sie 0.5—1 μ. grosse Micrococcen. Dieser Angabe muss ich beistimmen und die Grösse kommt also überein mit der des Staphylococcus pyogenes. Zur Bestimmung der Grösse und zur Vergleichung mit der des Staphylococcus pyogenes *hominis* und auch *bovis* habe ich etwa 30 Messungen angestellt und dabei constatirt, dass die Grössenverhältnisse durchaus nicht im Stande sind einen Unterschied zwischen Botryococcus und Staphylococcus bemerkbar zu machen. Die Grösse des Botryococcus variirte von 0.58 bis 1.05 Mikron, war also im Durchschnitt 0.8 Mikron.

Weder die Gruppirung, noch die Dimensionen, wenn wir absehen von den traubenförmigen Kolonien, sind also im Stande eine verwerthbare Differenz zwischen Botryococcus und Staphylococcus zu liefern.

Nicht günstiger steht es in dieser Hinsicht mit den Färbungsverhältnissen. Der Botryococcus weicht den Färbstoffen gegenüber in keinem Punkte von den Eiterstaphylococcen ab. Dass er, wie diese, auch die GRAM'sche Färbung sehr gut annimmt, wurde schon mehrfach betont. Ueberdies ist dieses eine sehr bekannte Sache.

---

1) BIRCH-HIRSCHFELD's Lehrbuch. 5te Aufl. I Bd. T. 521.

Weil mir viel daran gelegen war einen eventuell bestehenden Unterschied zwischen Botryococcus und Staphylococcus pyogenes, namentlich dem Staphylococcus pyogenes aureus hominis kennen zu lernen, habe ich ausführliche vergleichende Kulturuntersuchungen angestellt, über welche ich im Folgenden berichten will.

Ich bin bei diesen Untersuchungen ausgegangen von Gelatinestichkulturen, welche einen schönen Kelch gezeigt hatten.

1. *Gelatine.*

Wenn zu derselben Zeit Kulturen von Botryococcus, Staphylococcus aureus und Staphylococcus albus angelegt werden, so ist es eine sehr gewöhnliche Erscheinung, dass das Wachsthum des ersteren viel langsamer statt findet als das der beiden anderen. Diese Erscheinung ist nicht constant, kann also durchaus nicht als ein Unterscheidungsmerkmal aufgefasst werden, fällt aber doch öfters ins Auge. Wie früher schon erwähnt, ist innerhalb 4 Tage schon Wachsthum bemerkbar, aber die Schnelligkeit desselben ist bei Staphylococcus aureus und albus fast immer mehr ausgesprochen. In Plattenkulturen ist dieser Unterschied sehr leicht zu erkennen, indem z. B. nach 2 Tagen der Staphylococcus aureus und albus schon mit dem unbewaffneten Auge zu sehen ist, während der Botryococcus die Zuhülfenahme des Mikroskop nothwendig macht. In derselben Weise kann man wahrnehmen, dass in den Platten bei Staphylococcus aureus und albus schon Verflüssigung eingetreten ist, während diese bei Botryococcus noch immer auf sich warten lässt. Diese Verflüssigung ist bei ersteren z. B. schon nach 3 Tagen zu sehen, während sie bei letzterem am fünften Tage auftritt und wohl noch später sich manifestiren kann.

Dieser Unterschied kommt so häufig vor, dass es mir in mehreren Fällen möglich war, bloss dadurch den Botryococcus von Staphylococcus zu unterscheiden. Aber wie gesagt, constant ist er nicht, und in mehreren Fälle konnte ich ein schnelleres Wachsthum, ebenso schnell oder schneller als das des Staphylococcus beobachten.

In der Gelatine-Stichkultur kann das langsame Wachsthum sehr praegnant zu Tage treten und es sind die kelchförmigen

Kulturen, welche in dieser Hinsicht schöne Beispiele liefern. Wie früher mitgetheilt, kommt es auch, im Gegensatz zur Behauptung von RABE, in diesen Kulturen gewöhnlich zur Verflüssigung, doch dieses kann in einzeln Fällen geraume Zeit in Anspruch nehmen. Ein Monat ist in dieser Hinsicht nicht gerade lang. Selbst kam es vor wenn sehr alte, spröde Gelatine verwendet wurde, dass die Verflüssigung ausblieb, indem die Gelatine durch die starke Austrocknung sich spaltete und die Kultur zuletzt starb, ohne die Gelatine verflüssigt zu haben.

Aber auch in den Fällen, in denen von Kelchbildung nicht oder nur im Anfange die Rede war, und weiter Verflüssigung in der Weise wie bei Staphylococcus eintrat, konnte sehr oft constatirt werden, dass das Wachsthum bei Botryococcus ein langsameres sei. Regelmässig war das aber nicht der Fall.

Was nun die Verflüssigung selbst betrifft, so fing sie bei Botryococcus wie bei Staphylococcus am Stichkanal in seiner vollen Länge an, bemerkbar am Einsinken desselben. Die verflüssigte Gelatine breitete sich dann cylindrisch oder kegelförmig aus, wodurch zuletzt die ganze Oberfläche flüssig wurde. Langsam wurde nun der ganze Gelatinecylinder, so weit der Impfkanal sich erstreckte verflüssigt. Der unter dem Ende des Kanales gelegene Theil widerstand lange, fiel jedoch endlich auch der Verflüssigung anheim.

In dieser Hinsicht besteht kein Unterschied zwischen Botryococcus und Staphylococcus. Aber wie gesagt, es kann bei Botryococcus lange dauern, ehe die maximale Verflüssigung erreicht ist. In den Fällen in denen das von RABE beschriebene typische Wachsthum auftritt, kann der verflüssigte Gelatinecylinder um den Stichkanal wochenlang bestehen bleiben, während es sehr lange dauert bevor der ganze Cylinder, also bis zum Rande des Röhrchens, verflüssigt ist.

Ich habe eine grosse Zahl von Kulturen von Botryococcus, Staphylococcus aureus und albus mit einander verglichen, mit dem Zweck aus den Eigenschaften der verflüssigten Gelatine in Gelatinestichkulturen nähere Anhaltungspunkte zur Differenzirung der genannten Microorganismen zu erlangen. Im Anfange

meinte ich wirklich einen Unterschied in Bezug auf die Klarheit der verflüssigten Gelatine und auf die Bildung eines Häutchens an der Oberfläche gefunden zu haben. Es zeigte sich nämlich nach Untersuchung einer grossen Zahl von Kulturen, dass gewöhnlich der Botryococcus die verflüssigte Gelatine klar lässt; in der klaren Gelatine schweben einzelne Bakterienklümpchen und solche befinden sich auch an der Oberfläche. Bei Staphylococcus aureus ist die verflüssigte Gelatine trübe und es befindet sich an der Oberfläche ein von Bakterien gebildetes Häutchen. Auch von Staphylococcus albus wird ein solches Häutchen gebildet, die verflüssigte Gelatine sieht jedoch aus wie bei Botryococcus, ist also klar mit schwebenden kleinen Flocken. Wenn dieser Befund constant gewesen wäre, so wäre ein bequemer Unterschied zwischen den drei Bakterien gefunden. Alsbald ergab sich jedoch, dass der Botryococcus nicht immer klar verflüssigt, und bisweilen ein Häutchen an der Oberfläche bildet, dass Staphylococcus aureus dann und wann klar verflüssigt ohne Häutchenbildung, und dass Staphylococcus albus nicht selten die Gelatine trübt ohne ein Bakterienhäutchen zu bilden.

Von einem praegnanten Unterschied ist also nicht die Rede und dies war auch kaum zu erwarten.

Ich darf noch hinzufügen, dass bei Botryococcus auch in den Gelatinekulturen die Farbstoffbildung wahrgenommen wurde insofern als die sich unten in der verflüssigten Gelatine ansammlenden Bakterienklumpen und auch das Oberflächen-Häutchen, wenn es anwesend war, gewöhnlich eine gelbe Farbe zeigten.

2. *Agar.*

Auf gewöhnlichem Agar bildete der Botryococcus schöne goldgelbe Beläge wie der Staphylococcus aureus, während der albus durch sein weisses Wachsthum sich frappant differenzirte. Botryococcus und Staphylococcus aureus waren nicht aus einander zu kennen. Von einem weniger üppigen Wachsthum auf Agar war bei Botryococcus durchaus nicht die Rede und die Farbstoffproduktion schien selbst ein wenig stärker ausgesprochen als bei Staphylococcus aureus.

3. *Glycerinagar.* Dasselbe Wachsthum wie auf Agar, wurde

auf Glycerinagar beobachtet; es war nur wenig üppiger als auf dem glycerinirten Nährboden. Ein Unterschied zwischen Botryococcus und Staphylococcus aureus war nicht zu finden.

4. *Rinderblutserum.* Botryococcus und Staphylococcus aureus bildeten goldgelbe Beläge, Staphylococcus albus weisse. Auch dieses Nährmedium war nicht im Stande einen Unterschied zwischen Botryococcus und Staphylococcus aureus zu liefern.

5. *Kartoffeln.* Auch auf diesem Nährsubstrat zeigte Botryococcus und Staphylococcus aureus ein goldgelbes, Staphylococcus albus ein weisses Wachsthum. Die Aehnlichkeit zwischen den beiden ersteren kam also auch hier zu Tage; ein Unterschied war nicht bemerklich.

7. *Rinderbouillon.* Alle drei Bakterienarten machen die Bouillon sehr bald trübe. Nach 2 oder 3 Tagen bildet sich ein schleimiger Bodensatz, der sich beim Schütteln in kleinen Flöckchen in der Flüssigkeit erhebt, und in der ersten Zeit nicht fest an dem Boden des Gefässes haftet, später fest sitzt. An der Oberfläche ist vielfach ein kleines, dünnes, nicht zusammenhängendes Häutchen zu sehen, nicht aber constant vorhanden. In den älteren Kulturen ist der Bodensatz bei Botryococcus und Staphylococcus aureus gelb, bei Staphylococcus albus weiss gefärbt.

In den Bouillonkulturen wurde auch auf eine etwaige Eigenbewegung des Botryococcus untersucht. Wie bei Staphylococcus aureus und albus wurde auch bei diesem Micrococcus keine Bewegung wahrgenommen. Und die drei Sorten von Coccen zeigten sich auch übrigens im hängenden Tropfen durchaus ähnlich.

Auch die Bouillonkulturen haben also zur Unterscheidung, wenigstens des Botryococcus von Staphylococcus aureus, nichts beigetragen.

8. *Milch.* Bei 37° C. gezüchtet war die Milchgerinnung am ersten bei dem Staphylococcus pyogenes albus aufgetreten, nämlich in 42 Stunden. 24 Stunden später waren auch die Kulturen von Botryococcus und Staphylococcus aureus geronnen. Bei 20° C. gezüchtet liess die Gerinnung weit länger auf sich warten. Nach 11 Tagen zeigte der albus Gerinnung, während Botryo-

coccus und Staphylococcus aureus die Milch noch immer flüssig gelassen hatten. Nach 17 Tagen waren die Botryococcus-Kulturen geronnen. Erst nach 19 Tagen brachte der Staphylococcus aureus Gerinnung zu Stande.

Ein Unterschied zwischen den drei Bakterien wurde in der Weise beobachtet, dass der Staphylococcus albus insofern hier die von mir untersuchten Spezies kontrollirt wurden, immer die Milch schneller zur Gerinnung brachte als der Staphylococcus aureus und der Botryococcus, während zwischen den beiden letztern in dieser Hinsicht keine constante Differenz zu finden war.

Von keiner der drei Bakterienarten wurde in der Milch Gas erzeugt.

9. *Zuckerhaltige Nährmedien.*

Das Gährungsvermögen wurde ausser in Bouillonlösungen denen 2% Traubenzucker, Rohrzucker oder Milchzucker zugesetzt worden war, speziell untersucht in der folgenden Lösung

Pepton 2.
Kochsalz 2.
Natriumcarbonat 0.20.
Destillirtes Wasser 200.

der nun 4% Zucker (Trauben-, Rohr- oder Milchzucker) zugesetzt wurde. Das Natriumcarbonat diente zur Erreichung einer alkalischen Reaktion.

Die Untersuchung fand in EINHORN'schen Röhrchen statt.

Weder bei Botryococcus oder Staphylococcus aureus noch bei Staphylococcus albus wurde Gasentwicklung constatirt.

10. *Säurebildung.* Wie die beiden Staphylococcen macht auch der Botryococcus die Nährmedien bald sauer. Die Staphylococcenkulturen geben einen angenehmen säuerlichen Geruch ab, welche an den von Früchten erinnert. Dasselbe ist mit dem Botryococcus der Fall, und ich habe in dieser Hinsicht keinen Unterschied zwischen den drei Microorganismen gefunden. Schon RABE hat auf den eigenthümlichen, obstartigen, an Erdbeeren erinnernden Geruch des Botryococcus aufmerksam gemacht. Der Staphylococcus hat aber in vielen Fällen denselben Geruch.

Ich habe versucht in dieser Säurebildung einen etwaigen Un-

terschied zu finden, obwohl ich von quantitativen Bestimmungen Abstand genommen habe. BEYERINCK [1]) hat eine sehr schöne Methode angegeben zur Demonstration der Säurebildung von Bakterien. Feste Nährböden werden gemischt mit feiner pulverisirter Kreide und nach Erstarrung in Platten werden z. B. Striche mit den zu untersuchenden Bakterien über die Oberfläche gezogen. Durch die Säurebildung tritt nun Entfärbung um den Impfstrich ein. Ich habe in dieser Hinsicht Gelatine-, Agar- und Bierwortagarplatten, welche mit Kreide gemischt worden waren, verwendet. Die Gelatineplatten konnten natürlich nur während kurzer Zeit zur Beobachtung dienen, weil alsbald Verflüssigung eintrat. Aus diesen Versuchen ergab sich, dass im allgemeinen Staphylococcus pyogenes albus die grösste Quantität Säure bildet, während Staphylococcus aureus und Botryococcus wenig Verschiedenheit zeigen. Constant war dieses Resultat nicht. Weiter habe ich flüssige Nährmedien von alkalischer Reaktion mittels Lakmuss blau gefärbt und nun mit den drei Bakterien geimpft. Hier konnte kein praegnanter Unterschied zwischen den Bakterien, was die Verfärbung betrifft, gefunden werden. Die Säurebildung fand bei allen sehr bald statt.

11. *Indolbildung.* Als Kulturflüssigkeit wurde genommen die KOCH'sche alkalische Pepton-Kochsalzlösung. Je 8 Röhrchen mit 10 ccm dieser Lösung wurden geimpft mit Botryococcus, Staphylococcus aureus und albus. Ueberdies wurden 8 Röhrchen mit Bacillus coli commune geimpft; letztere sollten zur Kontrolle dienen. Jeden Tag wurde nun ein Röhrchen von jeder Spezies durch Hinzufügung von 0.01% Kaliumnitritlösung und Schwefelsäure auf Indol geprüft. Während die Colikulturen permanent die Nitroso-Indolreaktion zum Vorschein treten liessen, war dies bei Botryococcus, Staphylococcus pyogenes aureus und albus niemals der Fall.

Die Kulturen wurden bei Bruttemperatur gezüchtet.

---

1) Handelingen van het Derde Nederlandsch Natuur- en Geneeskundig Congres' gehouden te Utrecht in 1891, S. 408.

Ich habe die vergleichenden Kulturversuche nicht weiter verfolgt. Wenn man die obenerwähnten Resultate näher betrachtet, so muss daraus der Schluss gezogen werden, dass es durchaus nicht gelungen ist ein praegnantes und dabei constantes Kulturmerkmal zu finden, dass im Stande ist den Botryococcus immer von den Staphylococcen zu unterscheiden. Abgesehen nun von dem Vermögen Farbstoff zu bilden, sind die Kulturen von Botryococcus von denen des Staphylococcus niemals sicher zu unterscheiden. Die Gelatine-Kulturen bieten in dieser Hinsicht noch die meisten Unterschiede dar, aber das langsame Wachsthum, die Kelchbildung, das Klarbleiben der verflüssigten Gelatine, die Nichtbildung eines Oberflächen-Häutchens sind so wenig constante Merkmale, kommen überhaupt auch bei Kulturen von Staphylococcus aureus und albus vor, dass man mit Recht den Schluss ziehen kann, dass kulturell der Botryococcus nicht von dem Staphylococcus verschieden ist.

Wird die Farbstoffbildung mit in Betracht gezogen, dann nähert der Botryococcus sich dem Staphylococcus aureus. Wie bekannt, wird aber von den meisten Forschern der Staphylococcus aureus nicht von dem albus als besondere Gattung getrennt, doch werden diese beiden höchstens als zwei Racen derselben Art, gewöhnlich als identisch angesehen, weil die Farbstoffbildung von besonderen Umständen abhängt. Meine eigenen Erfahrungen sind damit in Uebereinstimmung. Oefters habe ich den Staphylococcus aureus seine chromogenen Eigenschaften verlieren sehen und ihn mit weisser Farbe weiter gezüchtet. Umgekehrt ist mir vorgekommen, dass ein echter Staphylococcus albus nach vielen Generationen auf einmal eine gelbe Tinction anzunehmen anfing, zwar nicht schön goldgelb wie dies bei dem Botryococcus und dem Staphylococcus aureus der Fall ist, doch jedenfalls genügend um ihn als aureus zu bezeichnen. Staphylococcus aureus und albus gehören also zu derselben Spezies. Für den Fall das man dieser Behauptung nicht beistimmen sollte, möchte ich noch hervorheben, dass der Unterschied zwischen Botryococcus und Staphylococcus aureus jedenfalls, grade durch die Farbstoffbildung geringer ist als zwischen aureus

und albus und dass diese Auffassung also nicht im Stande ist die Identität zwischen Botryococcus und Staphylococcus aureus weniger wahrscheinlich zu machen.

Nach den Kulturmerkmalen gehören Staphylococcus botryogenes, — aureus und albus zu derselben Spezies, während botryogenes und aureus nicht von einander zu kennen sind, wie dies von KITT und HELL zuerst angegeben wurde, und später auch von anderen bestätigt worden ist.

V. Schlussbetrachtung.

Zweck dieser Arbeit war mehr Klarheit in die Aetiologie der Botryomycosis zu bringen. Bis zur jüngsten Zeit war man über die bakteriologische Stellung des Micrococcus in Zweifel. In der neuesten Literatur wurden fast regelmässig die Angaben von RABE wiederholt, und dabei angegeben, dass KITT und HELL auf Grund der Kulturergebnisse zur Identität des Botryococcus mit Staphylococcus pyogenes hinneigten. Ein positives Urtheil wurde weiter nicht ausgesprochen.

Auch die Resultate von RABE, betreffs der pathogenen Wirkung bei Laboratoriumsversuchsthieren, wurden immer als mit der Wirklichkeit übereinstimmend erwähnt, obwohl KITT schon darauf hingewiesen hatte, dass seine Impfungen öfters andere als die von RABE erwähnten Wirkungen zeigten. Diese pathogene Wirkung näher zu prüfen war auch eine Aufgabe dieser Arbeit. Aber auch die pathogene Wirkung bei Pferden bedurfte näherer Untersuchungen, weil die Zahl der Fälle, in denen durch Impfung des Botryococcus an Pferden, Botryomykose entstand, noch immer sehr gering ist.

Nach den orientirenden Versuchen musste versucht werden die Frage nach der Identität zwischen Botryococcus und Staphylococcus pyogenes zu lösen, wozu Impfungen zu gleicher Zeit über die Wirkung des Staphylococcus bei Pferden belehren sollten.

Und was ist nun das Resultat meiner Untersuchungen?

1. Dass kulturell zwischen Micrococcus botryogenes und Staphylococcus pyogenes, namentlich aureus, zwar einige kleine Unterschiede bestehen, welche in einigen Fällen im Stande sein werden beide Microorganismen von einander zu unterscheiden, und dass das Wachsthum in Gelatine in der von RABE beschriebenen Weise eine Haupstelle einnimmt, dass aber durchaus constante Kulturunterschiede nicht bestehen, und also in dieser Hinsicht eine Differenz zwischen Micrococcus botryogenes und Staphylococcus aureus nicht besteht, und solche auch, wenn man die Farbstoffbildung vernachlässigt, in Bezug auf Staphylococcus albus nicht zu constatiren ist.

2. Weiter haben die Kulturversuche gezeigt, wie schon aus dem unter 1 Mitgetheilten zu folgern ist, dass die Meinung von RABE, dass der Botryococcus nicht gut auf gewöhnlichem Agar fortkomme, eine Meinung, welche schon von HELL zurückgewiesen wurde, *irrig ist.* Botryococcus wächst wie Staphylococcus sehr üppig auf und in den gewöhnlichen Nährmedien, also auch sehr gut auf und in Agar.

3. Die Thierimpfungen haben gezeigt, dass die Wirkung bei den gewöhnlichen Laboratoriumsversuchsthieren (Meerschweinchen, Kaninchen, Mäusen, Hunden, weissen Ratten) nicht diejenige ist, welche von RABE festgestellt wurde und worüber KITT schon Zweifel geäussert hat. Der Botryococcus ist ein *pyogener* Mikroorganismus, der wie der Staphylococcus und inderselben Weise wie dieser, auch Septikämieen und Septiko-pyämie erzeugen kann, aber auch zu weniger heftigen nicht in Abscedirung, sondern in Resolution endigenden Entzündungen führen kann. Das eitererregende Vermögen tritt aber häufig in den Vordergrund.

Irrig ist auch die Behauptung von RABE, dass Mäuse immun seien.

4. Die Versuche mit Botryococcen an Pferden haben erstens gelehrt, dass sie bei diesen Thieren Mykofibrome erzeugen können, wie dies so schön zuerst von RABE erwiesen wurde und wodurch er seine Micrococcen als ätiologisches Moment der Mykofibrome proclamiren konnte. Zweitens aber haben sie den Nachweis erbracht, dass die Botryococcen das botryogene Vermögen ver-

lieren und zur vorübergehenden Entzündung führen können, ohne dass nachher ein Botryomykom auftritt. In diesem letzten Falle entwickelt sie eine Wirkung, welche auch von Staphylococcus aureus und albus bei Pferden ausgeübt werden kann.

5. Die vier Versuche mit Staphylococcen an Pferden haben nicht zur Bildung von Botryomykomen geführt. Sie haben aber gezeigt, dass die akute Entzündung, welche von ihnen bei Pferden erzeugt wird, übereinstimmt mit der akuten Entzündung welche von Botryococcen verursacht wird. Es entsteht phlegmonöse Entzündung, welche entweder zur Abscedirung führt oder ohne Abscessbildung zurückgeht. Mit Botryococcus ist dasselbe der Fall. Bei den Impfungen von RABE (2te), von HELL und von mir, blieb Abscessbildung aus, in dem KITT'schen Fall dagegen folgte heftige Abscedirung.

Aus dem Erwähnten glaube ich folgern zu können, dass der Botryococcus und der Staphylococcus pyogenes (aureus) identisch sind. Ist letzterer identisch mit dem Staphylococcus albus, so ist auch dieser derselbe wie der Botryococcus. Ich weiss, es fehlt *ein* Glied in der Beweiskette, nämlich der Beweis, dass Staphylococcus im Stande ist Botryomykome zu erzeugen. Ich darf diesem Einwand jedoch die Thatsache gegenüberstellen, dass Botryococcus die Fähigkeit Botryomykome zu liefern nur in bestimmten Fällen oder bei bestimmten Thierspezies besitzt, diese Fähigkeit aber auch verlieren kann, und dann ein gewöhnlicher Staphylococcus geworden ist.

Mehrere, während längerer Zeit fortgesetzte Versuche, vor allem an Pferden, weil bei diesen Thieren Botryomykose am häufigsten vorkommt, werden zu zeigen haben, ob es gelingen wird dem Staphylococcus irgendwie botryogene Eigenschaften zu geben. Diese Versuche, welche also die Kette zu schliessen haben, werden wohl am leichtesten geschehen können an solchen Instituten, wo Pferde als Versuchsmaterial in ausreichender Zahl vorhanden sind. Für den praktischen Thierartz, für den dieses Versuchsmaterial sehr kostspielig ist, wird es schwer sein diese Aufgabe zu lösen.

Dass die Staphylococcen ihre botryogenen Eigenschaften ent-

wickeln können ist so zu verstehen, dass dieselben, wenn sie nicht durch Eiterung eliminirt werden, im Gewebe zurückbleiben können, ohne dem Absterben anheim zu fallen, wie auch schon KITT (sieh S. 13) vermuthet hat. Sie degeneriren, umgeben sich mit der bekannten Hülle und veranlassen einen chronischen Reiz, welcher geschwulstartige Neubildungen zu produciren vermag.

In diesen Neubildungen bleibt der eitrige Character zu erkennen, während auch die Bildung von Zoogloëahüllen fortbesteht. Dass die Neubildungen grosse Ausdehnung bekommen können, und die Neigung zur Heilung vielfach so gering ist, muss daran zugeschrieben werden, dass bei solchen chronischen Processen die Eliminirung der Ursache, d. h. des Staphylococcus, nicht leicht geschieht und desshalb die Gefahr für neue Infektion fortwährend bestehen bleibt. Dass jedoch eine spontane Heilung eintreten kann, wird durch das von mir erzeugte Impfbotryomykom sehr wahrscheinlich gemacht.

ERKLAERUNG DER ABBILDUNGEN.

Taf. I, Fig. 1. Linke Halsseite des Pferdes, mit geflochtenen Mähnen. In der Mitte das Impfbotryomykom; die Haare in der Umgegend sind abgeschoren worden. Nach einer am 25 November 1897 angefertigten Photographie.

Taf. II, Fig. 2. Eiter mit Botryomycesrasen. Glycerin-Präparat. Photographirt mit $^1/_4$ Zoll Seibert am 24 November 1897.

Taf. II, Fig. 5. *a* und *b*. Botryomyceskelchkulturen, 16 Tage alt, photographirt am 24 Januar 1898.

Taf. III, Fig. 3. Impfbotrymycesherd im Hautgewebe des Pferdes. Zeiss. Ocul. II, Obj. A. Methylenblau-Eosinfärbung.

Taf. III, Fig. 4. Botryomycesrasen des Impfbotryomycesherdes im Hautgewebe des Pferdes. Zeiss Ocul. II, Obj. DD. Methylenblaufärbung.

TAF. I.

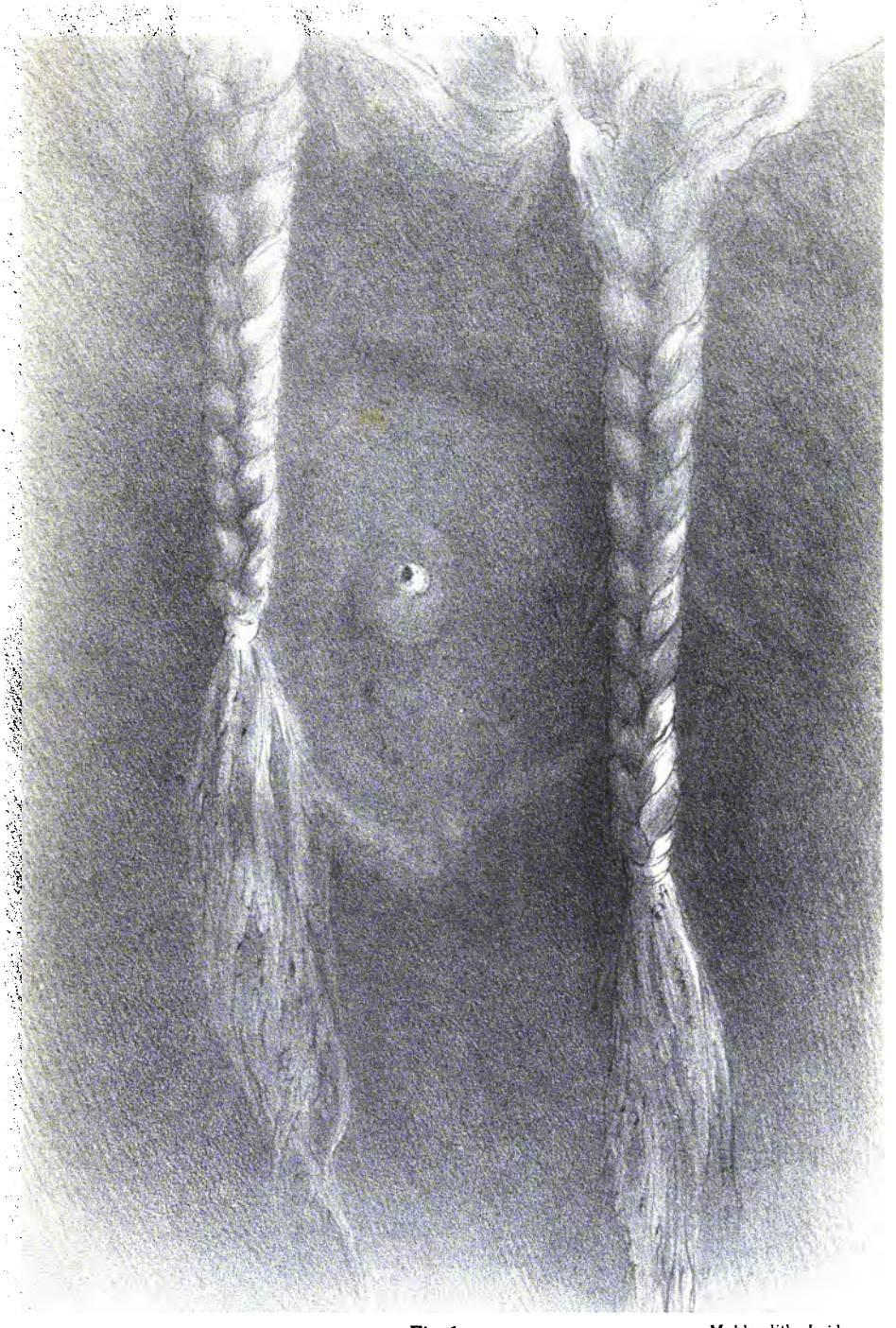

Fig. 1.

Mulder lith. Leiden.

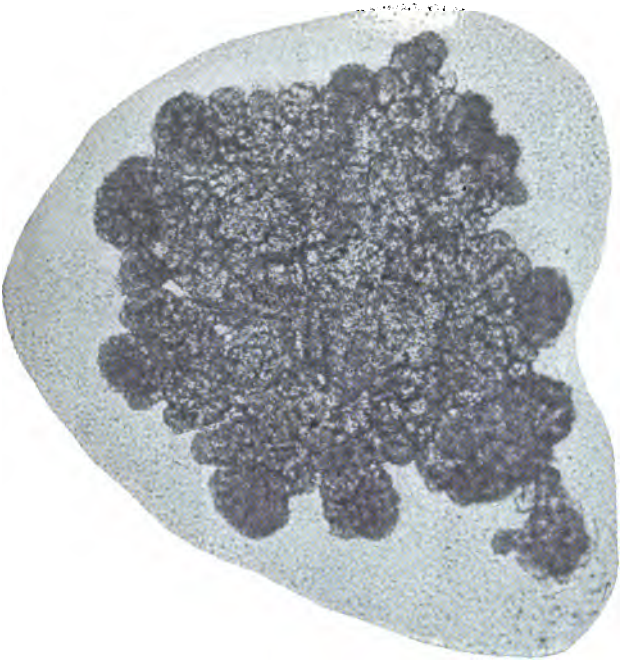

Fig. 2.

Fig. 5*a*.

Fig. 5*b*.

TAF. III.

Fig. 3.

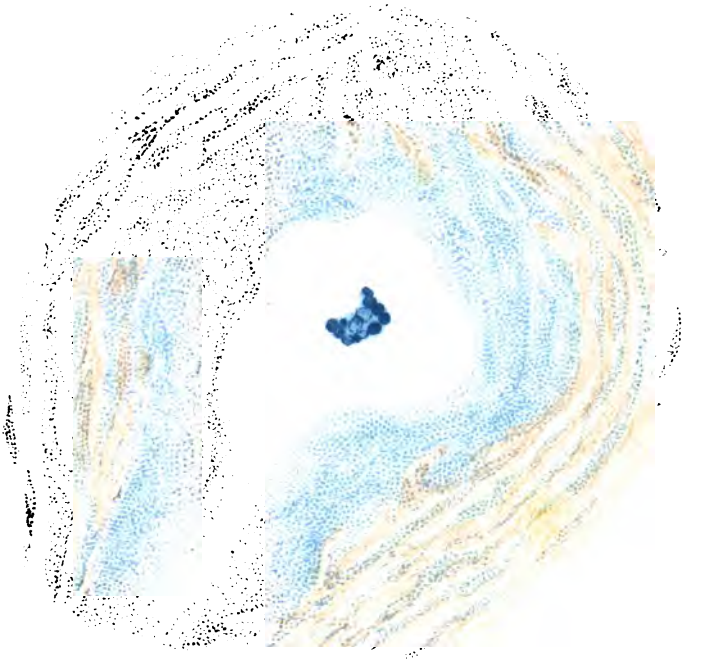

Fig. 4.

C. F. Strathmann, del.

Mulder lith. Leiden.

YC 88